Nachlass von Prof. V. Malta

SOCIETAS PRO FAUNA ET FLORA FENNICA

ACTA BOTANICA FENNICA

4–5

HELSINGFORSIAE 1928—1929

HELSINGFORS
Akademische Buchhandlung

BERLIN
R. Friedländer & Sohn

Nachlass von Prof. N. Malta
548

SOCIETAS PRO FAUNA ET FLORA FENNICA

ACTA BOTANICA FENNICA

4–5

Jur. 1934:432.

HELSINGFORSIAE 1928—1929

V

ACTA BOTANICA FENNICA 4
EDIDIT
SOCIETAS PRO FAUNA ET FLORA FENNICA

ÜBER DIE BASENPERMEABILITÄT PFLANZLICHER ZELLEN

VON

L. ARVI P. POIJÄRVI

VORGELEGT AM 5. MAI 1928

HELSINGFORSIAE 1928

HELSINGFORS
1 9 2 8
DRUCK VON A.-B. F. TILGMANN

Seinem verehrten Lehrer und Freund

Herrn Dr. Runar Collander

Der Verfasser

Inhaltsübersicht.

		Seite
	Einleitung	7
I.	*Die allgemeinen Grundsätze bei der Untersuchung des Permeiervermögens von schwachen Basen*	9
	1. Lebenszustand der Zelle während des Versuchs	9
	2. Welche Bedeutung haben die undissoziierten Moleküle und Ionen beim Permeieren einer schwachen, farblosen Stickstoffbase?	10
	3. Welches Mass ist für das Permeiervermögen der schwachen Basen aufzustellen?	15
II.	*Bisherige Permeabilitätsforschungen mit farblosen, schwachen Stickstoffbasen*	17
III.	*Eigene Permeabilitätsexperimente*	25
	1. Die untersuchten Basen	25
	2. Experimente mit *Rhoeo discolor*	28
	A. Methodik	28
	a. Ausführung der Versuche	28
	b. Berechnung der P-Werte	31
	c. Fehlerquellen	39
	B. Versuchsergebnisse	40
	a. Versuche mit kohlensäurefreien Lösungen	40
	b. Die Gültigkeit der aufgestellten Arbeitshypothesen	44
	c. Versuche mit kohlensäurehaltigen Lösungen	46
	C. Der Lebenszustand der Epidermiszellen während der Versuche	52
	3. Experimente mit *Tradescantia virginica*	58
	A. Allgemeine Grundlagen der Methode	58
	B. Ausführung und Ergebnisse der Versuche und Vergleich mit *Rhoeo*	60
	4. Experimente mit *Lemna minor*	62
	A. Allgemeine Grundlagen der Methode	62
	B. Ausführung und Ergebnisse der Versuche und Vergleich mit *Rhoeo* und *Tradescantia*	66
IV.	*Beziehungen zwischen den physikochemischen Eigenschaften der Basen und deren Permeiervermögen*	76
	1. Die Stärke der untersuchten Basen	76
	2. Die Teilchengrösse der untersuchten Basen	76
	3. Die Ätherlöslichkeit der untersuchten Basen	79
	4. Die Oberflächenaktivität der untersuchten Basen	87
V.	*Die wichtigsten Permeabilitätshypothesen im Lichte der dargelegten Tatsachen*	91
VI.	*Ausblicke*	96
	Zusammenfassung	97
	Zitierte Literatur	99

Einleitung.

Eine der wichtigsten Fragen der allgemeinen Physiologie ist das Problem der Durchlässigkeit der lebenden Zelle, d. h. die Frage, wie die lebende Zelle sich zu den gelösten Stoffen in der sie umgebenden Lösung bzw. in der Vakuole oder im Plasma verhält, für welche Molekülarten die Zelle undurchlässig ist, welche sie wiederum aus der Aussenlösung ins Innere dringen lässt oder umgekehrt, mit welcher Geschwindigkeit dies hinsichtlich der verschiedenen Stoffe vor sich geht, und schliesslich, welcher Mechanismus allen diesen komplizierten Erscheinungen zugrunde liegt.

Am Anfang der wissenschaftlichen Forschungsarbeit über die Zelldurchlässigkeit stehen die Untersuchungen von NÄGELI, DE VRIES und PFEFFER. Eine neue Phase in der Permeabilitätsforschung eröffnete ERNST OVERTON (1895—1907) sowohl durch die Planmässigkeit, mit der er das Problem in Angriff nahm, wie auch durch seine geniale, auf jahrzehntelange Forschungen basierte Hypothese der Stoffaufnahme in lebenden Protoplasten. Nach Overton ist die Permeabilitätsforschung sehr in die Breite gewachsen, und die das Durchlässigkeitsphänomen behandelnde Literatur ist äusserst umfangreich (vgl. z. B. STILES 1921—23, JACOBS 1924, HÖBER 1926 u. 1927).

Welches ist der jetzige Stand dieser Forschung? Ist heute — nach ungefähr fünfzig Jahren intensiver Forschung — das Verhalten verschiedenartiger lebender Zellen zu verschiedenartigen gelösten Substanzen aufgehellt, und ist man über den Mechanismus der Zellenpermeabilität im Klaren?

W. STILES (1921—23 S. 257) antwortet hierauf: »— — — it cannot be too strongly emphasized that what are wanted to lay the foundations of a proper understanding of the phenomena of permeability in plants are facts, and particularly quantitative data. When these are abundant where they are now scanty we may be able to formulate more definitely the laws governing the interchanges of substances between the cell and its surroundings, and so be in a much better position for understanding not merely the mechanism of cell permeability, but also the life of the plant as a whole.«

M. H. JACOBS (1924 S. 156) entwickelt ganz ähnliche Gedanken: »In conclusion, it may be emphasized that what is most needed in the field of cell permeability at the present day is facts. When sufficient accurate quantitative data covering a wide range of material and based upon a sufficient number of independent methods have become available, a satisfactory theory will fol-

low as a matter of course. Until that time, speculations should be reduced to a minimum.»

Diese Urteile zeigen deutlich den Charakter der meisten bisherigen Permeabilitätsforschungen: den Mangel an quantitativen Versuchsdaten und die Neigung zu weitläufigem, auf ein unzulängliches Tatsachenmaterial basiertem Theoretisieren. Man kann wohl sagen, dass nur Overton's theoretische Anschauungen eine einigermassen ausreichende experimentelle Grundlage haben. Overton's Veröffentlichungen haftet nur der grosse Mangel an, dass er seine Originalversuchsprotokolle nicht vorgelegt hat, wenigstens nicht betreffs der Pflanzenzellen, und dass seine Angaben über die Fähigkeit verschiedener Stoffe, in die Zelle oder aus der Zelle heraus zu permeieren, leider recht unbestimmt sind — unbestimmter, als es wohl eigentlich im Hinblick auf seine Versuchsergebnisse der Fall zu sein brauchte. Spätere Permeabilitätsforscher haben diesem Mangel an zahlenmässigen Versuchsdaten nicht in hinreichendem Masse abgeholfen, so dass die Forderung nach mehr derartigen Fakten und weniger Theorie offenbar vollkommen berechtigt ist.

Wer sich heutzutage an die Erforschung der Durchlässigkeit der lebenden Zelle macht, muss sich also die Feststellung quantitativer Tatsachen zum Ziel setzen.

Die schwachen Elektrolyte, und besonders die schwachen Basen, sind bei den bisherigen Permeabilitätsforschungen in dieser Hinsicht wohl am schlechtesten weggekommen.

Vorliegende Studie möchte einen Versuch darstellen, diesem Mangel abzuhelfen. Angewandt wurden farblose, schwache Stickstoffbasen von verschiedener physikalischer, chemischer und physiologischer Natur, und die Aufgabe bestand nun darin, zu möglichst quantitativen Angaben über das Eindringen dieser Verbindungen in verschiedenartige lebende Pflanzenzellen zu gelangen.

I. Die allgemeinen Grundsätze bei der Untersuchung des Permeiervermögens von schwachen Basen.

Vor der Inangriffnahme des eigentlichen Themas dürfte es zweckentsprechend sein, verschiedene, speziell bei den Permeabilitätsuntersuchungen mit schwachen Elektrolyten zu beachtende Hauptprinzipien zu behandeln, die zum Teil auch eine allgemeine, die gesamte Permeabilitätsforschung berührende Bedeutung haben.

1. *Lebenszustand der Zelle während des Versuchs.*

Erste unbedingte Forderung bei der Erforschung der Durchlässigkeit der lebenden Zellen ist natürlich, dass die Zellen die ganze Zeit wirklich lebend sind, und diese Forderung setzt besondere Sorgfalt voraus, wenn Verbindungen zu untersuchen sind, welche in wässeriger Lösung auf die lebende Zelle mehr oder weniger giftig wirkende H'- und OH'-Ionen abscheiden, wie es bei Säuren und Basen der Fall ist. Diese Forderung ist — leider — bei vielen wichtigen, früheren Untersuchungen nicht genügend beachtet worden, und die Folge war — zumal da grosse Autoritäten unkritisch waren —, dass verschiedene irrige Ansichten lange Zeit hindurch sich behauptet haben. Das beste Beispiel dafür bietet PFEFFER's (1877 S. 140) Behauptung, dass die starken Säuren und Basen mit Leichtigkeit in die lebende Zelle permeieren. Dieser Ansicht hat sich trotz OVERTON's berichtigender Untersuchungen (1895 u. a.) auch RUHLAND (1912) angeschlossen, offenbar infolge ungenauer Beobachtung des Lebenszustandes der Zellen während der Versuche. Heute hält man ja die Permeabilität der lebenden Zelle gegenüber starken Säuren und Basen für so gering, dass sie mit den üblichen Methoden kaum zu erkennen sein dürfte (OVERTON l. c., HARVEY 1911—1914, BRENNER 1918 u. a., vgl. auch HÖBER 1926 u. 1927).

Zu dieser ersten Forderung, für die bei Anwendung der üblichen Permeabilitätsbestimmungsmethoden Kriterien nicht besonders schwer zu finden sind, tritt noch vertiefend eine andere hinzu, die ihrer Natur nach komplizierter und schwerer zu verwirklichen ist: die Permeabilität der zu untersuchenden, dauernd lebenden Zelle darf sich unter dem Einfluss der bei diesen Versuchen oft schwer vermeidbaren, anomalen Verhältnisse nicht verändern, oder

wenn sie es tut, muss man die Richtung und Grösse der Veränderung kennen. Die Permeabilitätsmonographien (Stiles 1921—1923, Jacobs 1924, Höber 1926 u. a.) führen zahlreiche Beispiele an, welche die Wichtigkeit dieses Grundsatzes beleuchten.

2. *Welche Bedeutung haben die undissoziierten Moleküle und Ionen beim Permeieren einer schwachen, farblosen Stickstoffbase?*

Um das Permeiervermögen schwacher farbloser Stickstoffbasen zu bestimmen, verfährt man im allgemeinen wie folgt: man legt die betreffende Zelle in eine Lösung der zu untersuchenden Base, und aus den dann in Erscheinung tretenden Prozessen (Farbenveränderung eines Indikators bei Steigerung der OH'-Ionenkonzentration, Bildung von Niederschlag usw.) schliesst man, ob die Base permeiert oder nicht. Diese sichtbaren Vorgänge in der Zelle können nun entweder daher rühren, dass die undissoziierten Basenmoleküle der Aussenlösung permeiert haben oder aber daher, dass die Basenkationen auf eine oder die andere Weise — z. B. gemeinsam mit OH'-Ionen — in die Zellen eingedrungen sind. Welche dieser beiden Alternativen kommt nun in Frage?

Die letztere, die ein beträchtliches Permeiervermögen der Kationen voraussetzt, scheint nicht wahrscheinlich schon auf Grund der allgemeinen Erfahrung, dass gewöhnliche Zellen in der Regel für Ionen sehr wenig permeabel sind (vgl. z. B. Overton l. c., Harvey l. c., Brenner l. c., Osterhout 1925, Höber 1926). Hierzu kommt, dass manche Forscher gerade betreffs farbloser, schwacher Stickstoffbasen zum selben Ergebnis gelangt sind. Schon Overton (1896, 1897 u. 1899, S. 108) stellte fest, dass Alkaloide und Amine als freie Basen, aber nicht als Ionen in *Spirogyra* permeieren. Dieselbe Beobachtung machte Ruhland (1914) in bezug auf Alkaloide und verschiedene mit ihnen verwandte Verbindungen, Harvey (1911) und Tröndle (1920) betreffs verschiedener Alkaloide und Jacobs (1923) betreffs Ammoniak usw. Ausserdem haben viele Forscher indirekt aus Erfahrungen über den physiologischen Einfluss von Säuren und Basen mehr oder weniger bestimmte Schlussfolgerungen auf das sehr geringe Permeiervermögen der Ionen gezogen. Je mehr undissoziierte Moleküle und je weniger Ionen folglich die Lösung eines solchen schwachen Elektrolyten enthält, desto grösser ist ihr physiologischer Einfluss und umgekehrt (z. B. Traube 1912, Meyerhof 1916, Rona u. Bloch 1921a, Michaelis u. Dernby 1924, Mayeda 1928, Mevius 1928). —

Es gibt jedoch Untersuchungen mit farblosen schwachen Stickstoffbasen, denen zufolge auch die Kationen schwacher Basen mit beträchtlicher Geschwindigkeit permeieren sollen.

Ein Teil dieser Untersuchungen bezieht sich auf Blutkörperchen (Hamburger 1886, Gryns 1896, Hedin 1897, 1898, Ege 1922, Rona u. Bloch

1921b u. 1922), deren Permeabilitätseigenschaften offenbar sehr eigenartig sind. Ausserdem kann man, wie JACOBS (1927) gezeigt hat, diese Erscheinungen auf natürliche Weise erklären, ohne eine Permeabilität für Kationen bei den Blutkörperchen anzunehmen (vgl. später).

Von den in diesem Sinn an Pflanzenzellen gemachten Beobachtungen ist erstens die HARVEY'sche (1911) zu erwähnen, nach welcher Coffein in *Spirogyra* ebenso gut aus sauren wie aus basischen Lösungen permeierte, also abweichend von Overton's früher gemachter Erfahrung mit Alkaloiden wie auch von Harvey's eigener Erfahrung mit Strychnin, welches in die Zellen eindrang, wenn in der Aussenlösung das Alkaloid als freie Base oder reine Sulfatlösung vorhanden war, aber permeierunfähig wurde, wenn durch Zusatz von HCl die Hydrolyse aufgehoben wurde. Das abweichende Verhalten von Coffein findet jedoch seine natürliche Erklärung darin, dass diese Base infolge ihrer Schwäche ($K_{BOH} = 10^{-13.39}$, vgl. LUNDÉN 1908, KOLTHOFF 1923) auch in der überschüssige Salzsäure enthaltenden Lösung praktisch vollständig in undissoziierter Form war. (Bei Harvey's Versuch war in dieser Lösung nämlich $[H^{\cdot}]$ ungefähr gleich $10^{-2.9}$, $\varrho_{Coffein}$ bei ph = 2.9 ist dann praktisch = 1.)

Wichtiger ist in dieser Hinsicht offenbar die Untersuchung von BORESCH (1919). Ihm diente als Objekt *Fontinalis antipyretica*, und er untersuchte die Fähigkeit verschiedener Stoffe, in die Blattzellen dieser Pflanze zu permeieren, indem er als Kriterium des Permeiervermögens die Fähigkeit der Stoffe, die in den Zellen befindlichen Fettknäuel zu emulgieren, benutzte. Diese Fähigkeit kommt, wie Boresch fand, den aliphatischen Alkoholen, den Phenolen, den Alkaloiden und dem Ammoniak zu. Von diesen untersuchte er am genauesten die Alkaloide und das Ammoniak und kam u. a. zu dem Ergebnis, dass 1) die Alkaloidkationen rasch in die *Fontinalis*-Zellen permeieren und 2) dass Ammoniak in diese Zelle nur als freie Base, dagegen kaum als Ion dringt.

Die Ergebnisse von Boresch werden allgemein als durchaus zuverlässig angesehen (vgl. RUHLAND 1920, BENECKE-JOST 1924, HÖBER 1926 u. 1927). Da sie eine sehr bemerkenswerte Abweichung von den allgemeinen Erfahrungen über das Permeiervermögen von Ionen darstellen, dürfte Grund zu einer näheren Prüfung vorliegen.

Boresch beobachtete, dass, wenn man das Salz irgendeines Alkaloids in Wasser löst, die so erhaltene Lösung ein beinahe ebenso grosses oder nur wenig kleineres Emulgierungsvermögen hat als eine Lösung der freien Alkaloide. Als einzig mögliche Erklärung dieser Erscheinung erachtet Boresch, dass die Alkaloidkationen der Salzlösung in die *Fontinalis*-Zellen mit annähernd gleicher Geschwindigkeit wie die freien Basenmoleküle permeieren.

Boresch's folgenschwerstes Versäumnis bei diesen Versuchen ist offenbar, dass er ph weder in der Lösung der freien Alkaloidbase noch in der Salzlösung bestimmte, weshalb die während des Versuchs herrschende tatsächliche Konzentration der undissoziierten Moleküle des Alkaloids in diesen Lösungen nicht

kannte. Zwar glaubte er es getan zu haben, indem er theoretisch die Menge, z. B. des Chinins, berechnete, die sich möglicherweise mit der Kohlensäure des Lösungswassers in der Lösung der freien Base des Chinins verbunden hat, aber dies bedeutet — da die tatsächliche CO_2-Menge der Lösung nicht sicher bekannt war — offenbar keine Kenntnis der in dieser Lösung herrschenden Verhältnisse. Zudem dürfte die von Boresch ausgeführte Berechnung der durch Hydrolyse freigemachten Basenmenge der Salzlösung den tatsächlichen Verhältnissen durchaus nicht entsprechen, da selbst eine kleine Alkalicarbonatmenge (z. B. aus dem vom Glas sich lösenden Alkali entstanden) eine solche Pufferwirkung haben kann, dass die berechneten theoretischen Verhältnisse gar nicht stimmen. Es ist also nicht nur möglich, sondern vielmehr sehr wahrscheinlich, dass die tatsächlichen Konzentrationen an freier Base in den von Boresch angewandten Lösungen der Alkaloidbasen und -salze sich, zumal was die allerschwächsten Lösungen betrifft, nicht wesentlich voneinander unterscheiden, so dass es nicht nötig erscheint, für die Erklärung der geschilderten Boresch'schen Versuchsergebnisse die Alkaloidkationen als rasch permeierend zu bezeichnen. Die nähere Prüfung der Boresch'schen Versuchsergebnisse (l. c., Tabelle 6, S. 130) ergibt auch eine wesentliche Bestätigung des Gesagten: bei Strychnin — das infolge der Schwerlöslichkeit seiner freien Base in sehr geringer Konzentration angewandt werden musste — bemerkte man keinen Unterschied in dem Emulgierungsvermögen der »freien Base» und des »Salzes» (die Konzentration der freien Base war, nach dem Vorhergehenden, in beiden offenbar annähernd die gleiche), bei Chinin und besonders bei dem in verhältnismässig hoher Konzentration angewandten Brucin ist der Unterschied dagegen sehr beträchtlich. Bei Cocain scheint die Einwirkung der »freien Base» und der »Salzlösung» tatsächlich die gleiche zu sein, aber für diese, wie auch für die beiden obenerwähnten, gilt noch der folgende Hinweis: in den konzentriertesten Basen- wie auch Salzlösungen dieser Alkaloide ist die Emulgierung durchgehend ++ (das bedeutet völligen Zerfall der Fettknäuel), was sich leicht daraus erklärt, dass zunächst auch in der Salzlösung aus den obendargelegten Gründen so reichlich freie Base vorhanden ist, dass sie diese ++ Emulgierung zu bewirken vermag, und zweitens daraus, dass in den Lösungen der »freien Base» zwar noch sehr viel mehr undissoziierte Moleküle enthalten sind, als zum Zustandekommen der ++ Emulgierung erforderlich ist, dass aber dieser Überschuss sich beim Versuch nicht irgendwie bemerkbar machen kann, da ++ bereits die vollständige Emulgierung bezeichnet, welche zudem nach Boresch's eigener Aussage »in kürzester Zeit» stattfindet. Erst in den verdünnteren Lösungen würden offenbar die Konzentrationsunterschiede der undissoziierten Moleküle in den Lösungen von »Salz» und »freier Base» aus den Versuchsergebnissen zu erkennen sein, aber hier treten die besagten Fehlerquellen gerade wahrscheinlich besonders deutlich in Erscheinung, indem sie sowohl für die Lösungen der »freien Base» wie des »Salzes» ziemlich die gleiche Konzentration der undissoziierten Basenmoleküle und entsprechend das gleiche Emulgierungsvermögen erzeugen.

Boresch's folgende Versuche förderten ausserdem Tatsachen zu Tage, welche starke Zweifel an der Stichhaltigkeit seiner Behauptung über das grosse Permeiervermögen der Alkaloidkationen aufkommen lassen. Zunächst beobachtete er, dass, wenn Na_2CO_3 oder NaOH einer Alkaloidsalzlösung zugesetzt werden, deren Fähigkeit zu emulgieren, ebenso wie ihre Oberflächenaktivität, sich recht merklich vergrössert. Als Erklärung für diese Steigerung des Emulgierungs-

vermögens *könnte* nun, nach Boresch, die Tatsache gelten, dass unter dem Einfluss von Alkali die wirksame Alkaloidbase frei wird, welche Erklärung leicht zu dem Schluss führen könnte, dass die Alkaloidkationen sehr viel weniger emulgier- und also auch weniger permeierfähig sind als die freien Basenmoleküle. Boresch nimmt jedoch von dieser Erklärung, die mit seiner obigen Behauptung in Widerspruch stehen würde, Abstand. Dagegen erklärt er, dass, da Alkalizusatz eine, freilich geringe, Steigerung des Emulgierungsvermögens und der Oberflächenaktivität auch in einer Lösung von »freier Base» bewirkt, die Steigerung des Emulgierungsvermögens und der Oberflächenaktivität sowohl der Salzlösung wie auch der »freien Base» daher kommt, dass Alkali den Dispersitätsgrad der kolloidalen Alkaloidbase steigert und sie leichter permeierend sowie oberflächenaktiver macht, genau wie TRAUBE und ONODERA (1914) die Steigerung der Oberflächenaktivität der Alkaloide unter dem Einfluss von Alkali erklärt haben. Offenbar haben nun erstens Traube und Onodera die Bedeutung der Veränderung des Dispersitätszustandes bei den Oberflächenaktivitätsveränderungen der Alkaloide bedeutend übertrieben (vgl. später S. 88), und zweitens lässt sich diese geringe Zunahme des Emulgierungsvermögens und der Oberflächenaktivität — welche der Alkalizusatz zur Lösung der »freien Alkaloidbase» bewirkt — recht gut aus dem Freiwerden der von der Kohlensäure des Lösungswassers gebundenen Alkaloidbase erklären. In der Tat ist es eigentümlich, dass Boresch diese Möglichkeit in *diesem* Zusammenhang gar nicht in Betracht zieht — bei früheren Versuchen hat er es wohl getan —, sondern die Menge des dissoziierten Alkaloidteils in der Lösung der »freien Base» berechnet, ganz als ob das Lösungswasser absolut rein gewesen wäre. Es ergibt sich natürlich eine ganz geringfügige Ionenmenge, und Boresch zieht nun daraus den Schluss, dass die Umwandlung einer so kleinen Ionenmenge in undissoziierte Moleküle unmöglich die beobachtete, durch Alkali bewirkte Zunahme des Emulgierungsvermögens und der Oberflächenaktivität der freien Basenlösung erklären kann. Die Erklärung, dass die an Kohlensäure gebundene Alkaloidbase durch den Alkalizusatz frei geworden ist, scheint jedoch bedeutend wahrscheinlicher als Boresch's Bezugnahme auf die Dispersitätsveränderung.

Die bisher geschilderten Vorgänge kann man also zwar durch die Annahme erklären, dass die *Fontinalis*-Zellen ausgesprochen permeabel für Alkaloidkationen sind, aber man kann sie doch auch ebensogut ohne diese Annahme begreifen. Dagegen scheinen Boresch's folgende Versuche — sonderbarerweise — direkt in Widerspruch mit der Hypothese von der grossen Kationenpermeabilität zu stehen.

Schon auf S. 127 zeigt Boresch, dass Chininbisulfat (saures Chininsulfat) gar nicht emulgiert, und er vermutet, dies finde seine Erklärung in der Abspaltung von $H^{\cdot}$-Ionen. Später ergibt sich, dass man diesem Salz ein Emulgierungsvermögen erteilen kann, indem man seiner Lösung Na_2CO_3 hinzusetzt (Boresch bemerkt ausdrücklich, dass Natriumcarbonat allein nicht im geringsten emulgiert). Ausserdem ergibt sich aus den Boresch'schen Versuchen ausnahmslos, und er selbst betont dies ausdrücklich, dass der gradweise steigernde Säurezusatz das Emulgierungsvermögen der Alkaloidsalzlösung dauernd verringert und schliesslich gänzlich aufhebt. Da nun der Säurezusatz auch entsprechend die Menge der freien Base in der Salzlösung verkleinert, wäre wohl die natürlichste Schlussfolgerung aus dem Vorhergehenden, dass die freie Base permeiert, aber nicht das Kation.

Wie ist es nun überhaupt möglich, dass Boresch trotzdem festgestellt haben will, dass die Alkaloidkationen auch aus einer überschüssige Säure enthaltenden Alkaloidsalzlösung permeieren? Es ist dadurch möglich, dass er in diesen Versuchen als Kriterium des Permeierens nicht mehr die Emulgierung nimmt, mit deren Hilfe er eben vorher das Permeiervermögen der Alkaloidkationen feststellte, sondern — die Giftwirkung der Lösung. Er fand nämlich, dass z. B. 0.005-mol. Chininhydrochlorid bedeutend weniger giftig für die Blattzellen von *Fontinalis* war als die gleiche Lösung mit Zusatz von 0.0001-mol. freie HCl. Diese HCl-Konzentration allein war dagegen kaum giftig für die Zellen, so dass Boresch die grössere Giftwirkung der Lösung von Chininhydrochlorid + HCl aus dem Eindringen der Alkaloidkationen in die Zellen erklärt. Ohne eine natürliche Erklärung bleibt jedoch die Frage, warum die Kationen nun nicht die Fettknäuel emulgierten, obgleich sie dies, nach Boresch, bei anderen Versuchen regelmässig taten. Dieser letztere Beweis für das Permeiervermögen der Alkaloidkationen erscheint durchaus nicht natürlich. Die gesteigerte Giftwirkung der mit HCl versetzten Alkaloidsalzlösung dürfte bedeutend einfacher zu erklären sein aus der Addition der an und für sich ziemlich schwachen Giftwirkungen von Alkaloidsalzlösung und HCl.

Man sieht also, dass das annähernd gleich grosse Emulgierungsvermögen der Lösungen von »freier Base» und von »Alkaloidsalz» in den Boresch'schen Versuchen keineswegs die Hypothese von dem grossen Permeiervermögen der Alkaloidkationen zur Erklärung verlangt, und ferner, dass ein Alkalizusatz, welcher die Alkaloidbase freimacht, entsprechend das Emulgierungsvermögen des Alkaloidsalzes in recht hohem Masse steigert, dagegen nur in geringem Masse das Emulgierungsvermögen der »freien Base», welch letzterer Umstand sich ganz ohne Hypothesen über Dispersitätsveränderungen der Alkaloidbase erklären lässt, und schliesslich beweisen die Versuche, z. B. mit Chininbisulfat, und alle »Säurezusatz-Versuche» direkt, dass die Alkaloidkationen nicht emulgieren, also demnach offenbar auch nicht permeieren. In Anbetracht dieser Feststellungen erscheint es, wenigstens solange die Frage nicht durch Versuche mit bekannten $H^{\cdot}$-Ionenkonzentrationen experimentell entschieden ist, unnötig, auch nur bezüglich *Fontinalis antipyretica* von der obengeschilderten allgemeinen Auffassung abzuweichen, nach welcher die Ionen der schwachen Basen meistens im Vergleich zu ihren undissoziierten Molekülen nur sehr langsam permeieren.

Die letztere Schlussfolgerung wird offensichtlich noch bekräftigt durch Boresch's Feststellung der Tatsache, dass eine Lösung von freiem Ammoniak rasch emulgiert und folglich schnell permeiert, den Ammoniaksalzlösungen aber diese Fähigkeit nur in dem Masse zukommt, als freies Ammoniak in ihnen enthalten ist, woraus Boresch ganz richtig schliesst, dass nur die freie Base permeierfähig sei, die Ionen dagegen nicht. Woher kommt nun dies Ergebnis, welches dem von Boresch beobachteten Verhalten der Alkaloidkationen vollkommen widerspricht? Die Sache lässt sich offenbar einfach er-

klären: bei seinen Versuchen mit Ammoniak und dessen Salzen benutzte Boresch 100—1000 mal konzentriertere Lösungen als bei den Alkaloidversuchen, so dass die oben beschriebenen, aus der Verdünntheit der Lösungen herrührenden Fehlerquellen nur in sehr geringem Masse einwirkten. Sogar bei den kleinsten angewandten Konzentrationen von »freier Base» bzw. »Salz» herrschte also in den Ammoniakversuchen sichtlich ein deutlicher Unterschied bezüglich der Konzentration der undissoziierten Moleküle.

Fügt man also der obigen Darlegung der Boresch'schen Alkaloidexperimente noch diese Ausführungen über das Verhalten von Ammoniak hinzu, so scheint die Ansicht noch mehr bestätigt zu werden, dass es am natürlichsten ist, auch die Boresch'schen Alkaloidresultate zu erklären, ohne dass man den Alkaloidkationen, entgegen allen früheren Erfahrungen, ein bedeutendes Permeiervermögen zuschreibt.

Auf Grund aller obigen Darlegungen scheint es also offenbar, dass, soweit es sich um in normalem Lebenszustand befindliche Zellen handelt — abgerechnet solche Ausnahmefälle wie Drüsenzellen (vgl. Overton 1907), *Beggiatoa* (Ruhland u. Hoffmann 1926) usw. — die Fähigkeit von Ionen schwacher, farbloser Stickstoffbasen, in diese Zellen zu permeieren, analog dem, was man im allgemeinen von dem Permeiervermögen der Ionen weiss, so gering ist, dass sie sich nur in genauen und langandauernden Versuchen bemerkbar macht. Wenn eine schwache Base mit beträchtlicher Geschwindigkeit in gewöhnliche lebende Zellen permeiert, ist es somit wahrscheinlich, dass an dem Permeieren hauptsächlich die undissoziierten Moleküle beteiligt sind, die Ionen dagegen kaum. Später wird sich ergeben, dass auch die Resultate der jetzt vorliegenden Studie ziemlich klar beweisen, dass die untersuchten Basen wohl fast ausschliesslich in der Form von undissoziierten Molekülen permeieren.

3. *Welches Mass ist für das Permeiervermögen der schwachen Basen aufzustellen?*

Bei den bisherigen Untersuchungen über das Permeiervermögen der Basen begnügte man sich meistens damit, dass man die Zeiten feststellte, innerhalb deren verschiedene Basen, in gleicher Konzentration angewandt, eine bestimmte sichtbare Veränderung (etwa den Farbenumschlag eines Indikators) im Zellinnern hervorriefen. Oder aber man bestimmte die grösste, innerhalb einer gewissen Zeit noch wirksame Verdünnung der zu vergleichenden Basen. Das Permeiervermögen der betreffenden Basen wurde dann einfach der in dieser Weise bestimmten Zeit bzw. kritischen Konzentration umgekehrt proportional angenommen.

Die Mängel dieser Methode sind leicht nachzuweisen.

Erstens muss man, da, wie oben dargelegt, hauptsächlich nur die undisso-

ziierten Basenmoleküle permeieren, nicht die Totalkonzentrationen der verschiedenen Basen in den benutzten Lösungen berücksichtigen, sondern die Konzentrationen der undissoziierten Moleküle.

Zweitens werden von den verschiedenen Basen ungleich grosse Mengen innerhalb der Zellen nötig sein, um die als Kriterium des Permeierens benutzte Veränderung hervorzurufen. Handelt es sich z. B. um den Farbenumschlag eines Indikators, so wird von einer schwachen Base eine grössere Menge erforderlich sein als von einer stärkeren. Und wenn die Bildung eines schwerlöslichen Niederschlags als Kriterium des Permeierens dient, so spielen ausserdem noch die verschieden grossen Löslichkeitsprodukte der betreffenden Niederschläge eine Rolle: je kleiner das Löslichkeitsprodukt ist, um so geringere Mengen der permeierenden Substanz genügen dann zur Hervorrufung eines sichtbaren Niederschlags. Kurzum: ein und dieselbe, von verschiedenen Basen bewirkte intrazellulare Veränderung braucht nicht zu bedeuten, dass gleiche Basenmengen in die Zelle eingedrungen sind.

Drittens endlich muss man die Grösse des wirksamen Diffusionsgefälles zwischen der Aussenlösung und dem Zellsaft berücksichtigen. Denn besonders nach den Untersuchungen von Irwin (1926) an dem basischen Farbstoff Brilliantcresylblau und von Bärlund (1929) an Nichtelektrolyten, erscheint es mindestens wahrscheinlich, dass ganz allgemein die Geschwindigkeit des Eindringens gelöster Stoffe in lebende Zellen dem hierbei wirksamen Diffusionsgefälle proportional ist, sofern keine »adenoide Tätigkeit» (Overton) der lebenden Protoplasten störend eingreift. Eine wesentliche Mitwirkung der adenoiden Tätigkeit beim Permeieren der undissoziierten Basenmoleküle scheint aber bereits wegen ihrer meistens recht grossen Permeiergeschwindigkeit unwahrscheinlich. Nun genügt es aber zur Ermittelung des wirksamen Diffusionsgefälles nicht, dass man die Konzentration der praktisch allein permeierfähigen undissoziierten Basenmoleküle in der die Zellen umgebenden Lösung kennt. Vielmehr muss man auch ihre Konzentration im Zellsaft während des ganzen Versuches kennen. Wie leicht ersichtlich, verhalten sich Basen ungleicher Stärke auch in dieser Hinsicht verschieden: bei den schwächeren Basen ist selbstverständlich der undissoziierte Anteil auch im Zellsaft grösser, und das Diffusionsgefälle in bezug auf die undissoziierten Moleküle verringert sich deshalb bei ihnen schneller, als wenn es sich um eine stärkere Base handelt.

Aus allen diesen Erwägungen ergibt sich die Unzulänglichkeit der bisher gewöhnlich beim Vergleich des Permeiervermögens verschiedener Basen benutzten Methode. Um einen quantitativen Ausdruck für die Grösse der Permeabilität zu finden, muss man wohl von den Diffusionsgesetzen ausgehen. Eine einfache Überlegung ergibt dann als rationelles Mass des Permeiervermögens einer schwachen Base die in der Zeiteinheit permeierte Menge derselben

dividiert durch das während des Permeationsvorgangs herrschende Diffusionsgefälle in bezug auf die undissoziierten Basenmoleküle zwischen Aussenlösung und Zellsaft.

Fasst man nun diese Ausführungen zu kurzen Forderungen und Arbeitshypothesen zusammen, so lauten dieselben wie folgt:

Forderung: Die Zellen müssen während des Versuchs lebend und betreffs ihrer Permeabilitätseigenschaften unverändert sein, oder falls diese Eigenschaften sich verändert haben, müssen Richtung und Umfang dieser Veränderung bekannt sein.

Erste Arbeitshypothese: Die Fähigkeit der Ionen einer schwachen Base, durch das Protoplasma einer mit normalen Permeabilitätseigenschaften ausgestatteten Zelle zu permeieren, ist sehr gering, so dass sie bei Versuchen von relativ kurzer Dauer kaum in Erscheinung tritt. Wenn in derartigen Versuchen ein beträchtliches Permeieren der Base festgestellt werden kann, handelt es sich folglich im allgemeinen um das Permeieren der undissoziierten Basenmoleküle.

Zweite Arbeitshypothese: Als rationelles Mass für das Permeiervermögen einer schwachen Base ist zu gebrauchen die in der Zeiteinheit permeierte Menge derselben dividiert durch das während des Permeationsvorgangs herrschende Diffusionsgefälle in bezug auf die undissoziierten Basenmoleküle zwischen Aussenlösung und Zellsaft.

II. Bisherige Permeabilitätsforschungen mit farblosen, schwachen Stickstoffbasen.

Die ersten Erfahrungen über das Permeiervermögen der Basen beziehen sich auf das Ammoniak. Bereits 1871 stellte DE VRIES fest, dass das Ammoniak schnell in die lebenden Zellen der roten Rübe eindringt, wie aus dem Farbenumschlag des als Indikator wirkenden roten Zellsaftes hervorgeht. Diese Beobachtung über das grosse Permeiervermögen des Ammoniaks wurde in den folgenden Jahren von A. MAYER (1874), CHARLES DARWIN (1875) und PFEFFER (1877) an weiteren Objekten bestätigt und vertieft. Allein erst OVERTON hat bei seinen für die gesamte Permeabilitätsforschung grundlegenden Studien die Frage von dem Permeiervermögen der Basen in ihrem ganzen Umfang aufgenommen und beantwortet. Er unterscheidet dabei streng zwischen den starken Basen (z. B. den Alkalihydroxyden und quaternären Ammoniumbasen), welche in unbeschädigte Zellen nicht merklich eindringen,

und den schwächeren Stickstoffbasen, die grösstenteils mehr oder weniger leicht durch das unbeschädigte Plasma permeieren.

Overton untersuchte das Permeiervermögen der farblosen, schwachen Stickstoffbasen unter Anwendung von zwei Methoden: der Niederschlagsmethode und der plasmolytischen Methode (1896 u. 1897, vgl. auch 1902, 1904 u. 1907).

Von diesen war die Niederschlagsmethode (als Objekt Gerbsäure enthaltende Zellen, besonders von *Spirogyra*) die wichtigere.

Overton erklärte den allgemeinen Mechanismus der Niederschlagsbildung in den Zellsäften folgendermassen: Die in der Form undissoziierter Moleküle eindringende Base bildet mit der Gerbsäure des Zellsaftes ein schwerlösliches Salz, das sich niederschlägt, wenn genug von der Base permeiert hat. Er benutzte diese Methode zur Untersuchung des Eindringens sowohl der Alkaloide als auch des Ammoniaks und seiner Derivate (Amine). Overton war sich auch schon im Klaren über die Abhängigkeit der Niederschlagsbildung 1. von der Löslichkeit des gerbsauren Salzes der betreffenden Base und 2. von dem Hydrolysengrade dieses Salzes, der von der Dissoziationskonstante der eindringenden Base abhängig ist. Als Beispiel dafür, wie ungemein empfindlich diese Methode ist, erwähnt Overton, dass z. B. das Strychnin sichtbare Niederschläge noch bei einer Verdünnung von 1:10000000, ja selbst von 1:20000000 bewirken kann.

Die Angaben Overtons über seine mittels der Niederschlagsmethode ausgeführten Permeabilitätsbestimmungen sind, wie seine Permeabilitätsangaben überhaupt, sehr allgemein gehalten. Sie können in folgender Weise zusammengefasst werden: Die freien einwertigen Stickstoffbasen (die aliphatischen, die carbozyclischen und die heterozyclischen Amine und daran anschliessend die Alkaloide), mit Ausnahme der quaternären Ammoniumbasen, dringen sehr rasch in alle lebenden Protoplasten ein, Piperazin, wie auch die aliphatischen Diamine dringen dagegen sehr langsam ein. Viel genauere quantitative Angaben findet man bei Overton kaum, vielmehr bevorzugt er ziemlich unbestimmte Ausdrücke, wie z. B. »rasch», »sehr rasch», »äusserst rasch» usw., um die Permeiergeschwindigkeit der verschiedenen Basen, von denen eine beträchtliche Zahl genannt wird, zu charakterisieren.

Ebenso allgemein gehalten ist der Bericht Overton's über seine Plasmolyse-Experimente mit Basen, bei denen er die Methode der Partialdrucke anwandte und die wenigstens Ammoniak, Pyridin und Chinolin betrafen, welche nach seinen Mitteilungen alle drei rasch oder sehr rasch in die Zellen eindringen. Overton betont besonders, dass durch diese Experimente die mit der Niederschlagsmethode erzielten Ergebnisse über das Permeiervermögen der schwachen Basen mit dem Permeiervermögen von ganz andersartigen Stoffen, das mit der plasmolytischen Methode festgestellt worden ist, verglichen werden können.

Ruhland hat in mehreren Veröffentlichungen (z. B. 1909 u. 1926) die Ergebnisse Overton's einer Kritik unterzogen, besonders seine mit der Niederschlagsmethode gewonnenen Resultate. Bei der Beurteilung der Overton'schen Ergebnisse dürfte es zweckmässig sein, von dieser Kritik auszugehen. Sie kann wohl in drei Hauptpunkte zusammengefasst werden: 1. Overton's Mitteilungen über die Methodik und die Ergebnisse der ausgeführten Experimente sind so allgemein gehalten, dass seinen Schlussfolgerungen kein Wert in quantitativer Hinsicht beigemessen werden kann. 2. Overton hat das Permeiervermögen der Alkaloide in sehr hohem Grade überschätzt, was darauf beruht, dass die von ihm angewandte Niederschlagsmethode äusserst empfindlich ist, so dass ein Vergleich der durch sie gewonnenen Ergebnisse mit denjenigen, die durch andere Methoden, z. B. durch die plasmolytische, erzielt worden sind, zu irrigen Schlussfolgerungen führt. 3. Er war in seinen Experimenten nicht vorsichtig genug in betreff des Lebenszustandes der Zellen.

Auf Grund des oben Gesagten dürfte jedermann dem ersten Punkt der Ruhland'schen Kritik beistimmen. Overton gibt nicht an, ob er die Konzentrationen der freien Base in der Aussenlösung gekannt hat, auch hat er nicht, jedenfalls nicht in allen Fällen, die entsprechende Konzentration innerhalb der Zelle beim Beginn der Niederschlagsbildung gekannt, weshalb ihm die bei den Experimenten herrschenden Diffusionsgefälle unbekannt blieben. Desgleichen waren ihm die Totalmengen dieser Basen in der Zelle im Beobachtungsaugenblick unbekannt. Infolgedessen kann den von ihm aufgestellten Vergleichungen zwischen dem Permeiervermögen der verschiedenen Alkaloide kaum volle Beweiskraft beigemessen werden. — Die zweite Behauptung jener Kritik, Overton habe das Permeiervermögen der Alkaloide überschätzt, dürfte dagegen nur teilweise Berechtigung haben. Allerdings ist die Methode sehr empfindlich, d. h. der Niederschlag entsteht schon, wenn eine sehr kleine Basenmenge in die Zelle eindringt, aber andererseits ist in den Experimenten die Konzentration der freien Base in der Aussenlösung u. a. infolge der Schwerlöslichkeit der Alkaloide auch sehr gering, so dass die Konzentration der permeierenden Moleküle im Zellsaft im Beobachtungsaugenblick wahrscheinlich nicht, wie Ruhland's Behauptung wohl geltend machen will, aussergewöhnlich klein war, wenn man sie in Prozenten der entsprechenden Konzentration der Aussenlösung berechnet. — Ruhland's Kritik hinsichtlich des Lebenszustandes der Zellen kann, besonders was die Untersuchungen mit schwachen Basen anbetrifft, vielleicht zutreffend sein, da Overton im Zusammenhang mit seinen Niederschlagsexperimenten keine genauen diesbezüglichen Angaben macht. Aber andererseits ist doch wiederum nicht zu leugnen, dass Overton im allgemeinen den Eindruck eines äusserst umsichtigen, kritischen Experimentators macht.

Etwa gleichzeitig mit den Untersuchungen Overton's oder sogar bereits

etwas früher erschienen einige Untersuchungen an Blutkörperchen von HAMBURGER (1886), GRYNS (1896) und HEDIN (1897 u. 1898), die hier zu erwähnen sind. Diese Forscher zeigten, dass die Blutkörperchen bedeutend permeabler für Ammonium- und Aminsalze als für andere Neutralsalze zu sein scheinen. Dieses Ergebnis, das auch in den letzten Jahren bestätigt worden ist (vgl. EGE 1922) und das auf den ersten Blick als Gegenbeweis der ersten Arbeitshypothese erscheinen kann, wird von JACOBS (1927) auf folgende Weise erklärt: Infolge von Hydrolyse enthalten die Lösungen der betreffenden Salze von schwachen Basen undissoziierte Moleküle der freien Base. Diese permeieren rasch in das Blutkörperchen, und ausserdem wird das Anion der Aussenlösung gegen das OH'-Ion ausgetauscht, das aus dem Innern der Zelle kommt. Dieser Austausch wird durch die erwiesene allgemeine Anionenpermeabilität der Blutkörperchen ermöglicht. Hierdurch entsteht der irreführende Anschein, als ob die beiden Ionen des Ammoniumsalzes als solche eingedrungen wären. —

Nach den Veröffentlichungen von Overton sind eine Menge Permeabilitätsuntersuchungen mit schwachen farblosen Stickstoffbasen erschienen. In diesen ist Overton's Niederschlagsmethode angewandt worden, oder der in der Zelle stattfindende Farbenumschlag entweder beim natürlichen Anthocyan der Zelle oder bei einem künstlich darein eingeführten Farbstoff ist als Kriterium des Eindringens der Base angesehen. In einigen Veröffentlichungen ist die in die Zelle permeierte Base direkt analysiert worden, in vielen anderen wiederum hat man das Permeieren aus einigen ihrem Mechanismus nach mehr oder weniger unbekannten Veränderungen in der Zelle gefolgert, die durch die Base hervorgerufen worden sind.

Mit der Niederschlagsmethode haben HARVEY (1911), RUHLAND (1914) und TRÖNDLE (1920) einige Alkaloide untersucht und festgestellt, dass deren undissoziierte Moleküle rasch in die lebende Zelle eindringen.

Die Farbenveränderung des natürlichen Anthocyans von Pflanzenzellen ist von BRENNER (1918) und JACOBS (1923) als Kriterium des Permeierens von Ammoniak benutzt worden. Beide bestätigen die früheren Angaben, wonach das Ammoniak als freie Base äusserst rasch in die Zelle eindringt.

In den Untersuchungen mit künstlich gefärbten Zellen diente das Neutralrot als vitaler Indikator wohl zum ersten Male in den Experimenten von BETHE (1909), der zeigte, dass H- und OH'-Ionen (HCl und NaOH) nicht wahrnehmbar in eine Meduse eindringen, solange diese lebendig ist (der Farbenton des in der Meduse gespeicherten Neutralrots veränderte sich nicht).

Das Permeiervermögen einer schwachen Base wurde mit dieser Methode wohl zuerst von WARBURG (1910) nachgewiesen, der zeigte, dass das Ammoniak rasch in das Ei eines Echinoderms, *Strongylocentrotus lividus*, eindringt, was daraus hervorging, dass die Farbe des darin angesammelten Neutralrots vom sauren (rötlichen) in den basischen (gelblichen) Ton überging.

HARVEY (1911) untersuchte mit dieser Methode das Eindringen der Basen sowohl in lebende Pflanzenzellen (*Spirogyra* und *Elodea*) als auch in Tierzellen (*Paramaecium* und Eier von verschiedenen Echinodermen). Er bestätigt die Overton'sche Einteilung der Basen in zwei grosse Gruppen: in starke, die nicht wahrnehmbar in lebende Zellen eindringen, und in schwache, die beinahe ohne irgendwelchen Widerstand permeieren. Als schwache farblose Stickstoffbasen dienten Harvey Ammoniak, Methyl-, Dimethyl-, Trimethyl-, Äthyl-, Propyl- und Isopropylamin.

Will man auf Grund von Harvey's Ergebnissen Vergleiche zwischen dem Permeiervermögen der verschiedenen untersuchten Amine anstellen, so muss man nach den vorhin dargelegten allgemeinen Prinzipien folgende Umstände in Erwägung ziehen: 1. Als Aussenlösung benutzte Harvey Lösungen der freien Basen, in denen — trotz der möglichen Verunreinigungen des Lösungswassers — die Konzentration der freien Base tatsächlich annähernd dieselbe war, weil die untersuchten Amine hinsichtlich ihrer Stärke nicht allzuviel voneinander abweichen (vgl. z. B. LUNDÉN 1908). 2. Die intrazellularen Konzentrationen der undissoziierten Moleküle der verschiedenen Basen waren im Augenblick des Farbenumschlags wegen der annähernd gleichen Stärke der geprüften Amine einander wahrscheinlich ziemlich gleich, und zwar waren diese Konzentrationen deswegen zugleich recht niedrig, weil die Verbindung des Neutralrots mit den sauren Bestandteilen des Zellsaftes sich bereits bei einem niedrigen ph-Wert zersetzt (vgl. später). 3. Das Diffusionsgefälle hinsichtlich der undissoziierten Basenmoleküle war infolgedessen während des Versuchs bei verschiedenen Basen annähernd dasselbe. 4. Die Totalmengen der verschiedenen Basen im Zellinnern waren im Augenblick des Farbenumschlags aus dem in Punkt 2 erwähnten Grunde auch annähernd dieselben. Also geben die in den Experimenten beobachteten Zeiten des Farbenumschlags wahrscheinlich ein annäherndes Mass für das Permeiervermögen der verschiedenen Basen ab. Harvey's Ergebnisse zeigen jedoch, dass diese Zeitwerte bei verschiedenen Basen so gleichgross sind, dass in Anbetracht der Ungenauigkeit der angewandten Methode kaum etwas anderes von dem Permeiervermögen der untersuchten schwachen Basen gesagt werden kann, als dass sie in die geprüften Zellen mit grosser und annähernd derselben Geschwindigkeit permeieren. (Nur die Tabelle über die Ergebnisse der Experimente mit *Elodea*, a. a. O., scheint die Reihenfolge $NH_3 \rangle CH_3NH_2 \rangle (CH_3)_2NH$ ziemlich deutlich anzugeben.)

Das mit Neutralrot gefärbte *Paramaecium* diente auch in der Untersuchung von BORNSTEIN und RÜTER (1925) als lebendes Objekt. Die Autoren prüften das Verschwinden der Farbe aus diesen Protozoen, während sie in der Lösung verschiedener Alkaloide und einiger anderer Stoffe lebten, und hielten diese Erscheinung für ein Zeichen des Eindringens der genannten Stoffe. Diese

Erklärung und die Beweiskraft der Experimente in betreff des grossen Permeiervermögens der untersuchten Basen in *Paramaecium* verliert jedoch bedeutend an Wert, da auch Alkalisalze und Zucker Entfärbung verursachen. — Dasselbe Objekt wurde auch von PACKARD (1925) benutzt, nach dessen Angaben das Licht beschleunigend auf das an und für sich rasche Permeieren des Ammoniaks wirken soll.

An die vorhergehenden dürfte sich auch die Untersuchung von WERTHEIMER (1923) anschliessen, in der der Verfasser das Eindringen einiger schwachen Basen (in einer Konzentration von 0.005—0.01-m in physiologischer Kochsalzlösung gelöst) durch die überlebende Froschhaut in eine Kochsalzlösung prüft, die Neutralrot + 1 Tropfen 0.1-m H_2SO_4 enthielt. Der Indikator gab an, wann von der Base soviel durchgedrungen war, dass die Lösung deutlich alkalisch wurde. Auf Grund der Zeit, die bei Benutzung verschiedener schwacher Basen für die genannte Farbenveränderung nötig war, erhielt Wertheimer für diese folgende Reihenfolge der Permeiergeschwindigkeiten (mit der schnellsten begonnen): Ammoniak > Trimethylamin > Dimethylamin. Was den Lebenszustand der Froschhaut anbelangt, dürfte irgendein sicheres Kriterium desselben während des Experiments schwierig zu ermitteln sein. War die Haut aber wirklich hinsichtlich ihrer Permeabilitätseigenschaften unverändert, so dürfte das Ergebnis in betreff dieses Objektes für richtig gehalten werden können, erstens weil die untersuchten Amine ihrer Stärke nach nicht allzuviel voneinander abweichen, und zweitens weil die Mengen der verschiedenen Basen, die nötig waren, um den Farbenumschlag des Indikators zu bewirken, und ebenso die herrschenden Diffusionsgefälle annähernd gleich gross waren, so dass die Versuchszeiten tatsächlich als ein ungefähres Mass für das Permeiervermögen dieser Basen dienen können. —

Indem er die in die Zelle eindringende Basenmenge direkt analysierte, zeigte KOZAVA (1919), dass das Glucosamin in gewissem Grade in die Blutkörperchen des Menschen permeiert, dagegen nicht in die Blutkörperchen des Kaninchens, des Hundes und des Pferdes. RONA und BLOCH (1921 a, b u. 1922) benutzten eine besondere biologische Analysenmethode und zeigten, dass Chinin in die Blutkörperchen gewisser Säugetiere und Vögel sehr rasch eindringt. Die Ergebnisse dieser beiden Untersuchungen lassen sich jedoch schwerlich mit denjenigen der anderen vergleichen, weil die sowohl während der Glucosamin- als der Chininexperimente herrschenden Diffusionsgefälle nicht ermittelt wurden, da der Zustand dieser Stoffe innerhalb der Blutkörperchen unbekannt war. Durch direkte Analyse (Nesslerisieren) hat IRWIN (1926) gezeigt, dass das Ammoniak schnell in lebende Zellen von *Nitella* permeiert. —

Es ist ratsam, sich den Untersuchungen gegenüber vorsichtig zu verhalten, in denen als Kriterium der Permeierfähigkeit der schwachen Basen *Verände-*

rungen in der Funktion der lebenden Zelle oder andere ihrem Mechanismus nach mehr oder weniger unbekannte Erscheinungen benutzt worden sind. Denn es liegt in der Natur der Sache, dass bei derartigen Permeabilitätsbestimmungen im allgemeinen weder die permeierten Mengen noch die Grösse des treibenden Diffusionsgefälles bestimmt werden können. Zuverlässige quantitative Ergebnisse über die Grösse der Permeabilität lassen sich also mittels derartiger Methoden kaum erzielen. Solche Untersuchungen sind sowohl mit Pflanzen- als auch mit Tierzellen ausgeführt worden. Was besonders die Alkaloide betrifft, hat man Untersuchungen dieser Art wegen der allgemeinen pharmakologischen Bedeutung dieser Stoffe in grosser Menge angestellt. Im folgenden werden nur einige Untersuchungen berücksichtigt, die eben für die Klarlegung der Permeabilitätsfrage vielleicht von Bedeutung sein können.

Meyerhof (1916) untersuchte die hemmende Wirkung verschiedener Stoffe auf die Atmungserscheinungen nitrifizierender Bakterien, indem er u. a. das Ammoniak und seine Derivate sowie einige Alkaloide behandelte. Aus seinen Untersuchungen gewinnt man die Auffassung, dass die aliphatischen Monoamine sowie Piperidin, Coniin, Naphthylamin und die Alkaloide — das Morphin vielleicht ausgenommen — in höherem oder geringerem Grade im stande sind, die Atmung der untersuchten Bakterien zu hemmen und mithin — soweit diese Einwirkung, wie wohl wahrscheinlich, auf das Eindringen der Stoffe in die Zelle zurückzuführen ist — auch zu permeieren. Auf Grund dieser Experimente kann dagegen das relative Permeiervermögen der oben angeführten Stoffe schwerlich ermittelt werden. Die fehlende oder ganz geringe Einwirkung der aliphatischen Diamine, des Piperazins, Guanidins und Pyridins sowie des Anilins scheint nicht ohne weiteres zu beweisen, dass diese Stoffe ohne Permeiervermögen sind, denn der Mechanismus der als Kriterium benutzten Atmungshemmung ist unbekannt.

Grafe (1912) untersuchte die hemmende Wirkung des Ammoniaks, der Amine und einiger Alkaloide auf die Oxydation der Blutkörperchen. Wenn die oxydationshemmende Wirkung als Massstab für das Permeiervermögen betrachtet werden könnte, würden die Ergebnisse zeigen, dass das Ammoniak und die Amine ungefähr mit derselben Geschwindigkeit in die Zelle permeieren und dass die Alkaloide auch ein grösseres oder kleineres Permeiervermögen besitzen. Über das Permeiervermögen dieser Stoffgruppen, verglichen miteinander oder mit anderen Stoffen, geben die Experimente natürlich keine Auskunft.

Auch das von Boresch (1919) als Kriterium der Permeation benutzte Emulgierungsvermögen verschiedener Stoffe gegenüber den Fettknäueln in den Blattzellen von *Fontinalis* ist seinem Mechanismus nach unbekannt. Ein quantitativer Vergleich des Permeiervermögens verschiedener Stoffe kommt somit nicht in Betracht, und die von Boresch dargestellte Reihenfolge des Permeiervermögens der Alkaloide ist offenbar ganz willkürlich.

Wie lautet also die Zusammenfassung des Vorhergesagten in betreff des Vermögens der schwachen Stickstoffbasen, in die lebende Zelle einzudringen?

Erstens dürfte zuzugeben sein, dass die bisherigen Untersuchungen eine in quantitativer Hinsicht nur *sehr unbestimmte* Auffassung von dem Permeiervermögen der schwachen Basen ergeben. Zweitens scheint diese Auffassung sich noch auf demselben Niveau zu befinden, auf das sie durch OVERTON's Untersuchungen gehoben wurde. *Denn im Grunde genommen weiss man ja immer noch über diesen Gegenstand nur, dass das Ammoniak und die untersuchten aliphatischen Monoamine und wahrscheinlich auch die Alkaloide rasch in lebende Zellen permeieren* (eine Ausnahme macht teilweise das Glucosamin nach Kozava, und auch die Alkaloide sollen nach Ruhland nicht besonders rasch permeieren), *wogegen die Diamine,* nach Meyerhof vielleicht auch das Guanidin, *langsam permeieren.* Wie gross das Permeiervermögen dieser Stoffe, verglichen z. B. mit demjenigen der Nichtelektrolyte ist, darüber kann auf Grund der bisherigen Experimente schwerlich irgendeine bestimmte Meinung ausgesprochen werden.

Es scheinen somit die vorhin angeführten Aussagen von Stiles und Jacobs über die Notwendigkeit von neuen quantitativen Permeabilitätsbestimmungen eben auch in betreff der schwachen Basen völlig berechtigt zu sein.

Aus Obigem ergibt sich von selbst als Aufgabe der folgenden Untersuchung:

1. *Das Permeiervermögen verschiedener Basen in bezug auf normale, unbeschädigte Pflanzenzellen zahlenmässig festzustellen.* Zu diesem Zwecke war es notwendig

a) zu prüfen, ob die beiden oben dargestellten Arbeitshypothesen stichhaltig sind,

b) die während des Experiments in die Zelle eingedrungenen Basenmengen und die während des Permeationsprozesses herrschenden mittleren Diffusionsgefälle in Hinsicht auf die freien Basen zu bestimmen, sowie

c) den Lebenszustand und die eventuellen Permeabilitätsveränderungen der Zelle während der Experimente besonders ins Auge zu fassen.

2. *Die zwischen dem Permeiervermögen der verschiedenen Basen und ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften bestehenden Beziehungen festzustellen, um auf dieser Grundlage eine möglichst wahrscheinliche Erklärung der beobachteten Permeationserscheinungen zu finden.* Dabei boten vom Standpunkt der in letzter Zeit immer mehr hervortretenden kombinierten Ultrafilter-Lipoidlöslichkeitshypothese aus die extrem kleinen Moleküle NH_3, CH_3NH_2 und $NH_2 . NH_2$ ein ganz besonderes Interesse. Anderseits war es

auch interessant zu entscheiden zu suchen, ob Overton und andere frühere Forscher das Permeiervermögen der grossmolekularen, aber lipoidlöslichen Alkaloide sehr überschätzt haben, wie kürzlich behauptet worden ist.

III. Eigene Permeabilitätsexperimente.

1. *Die untersuchten Basen.*

Der Verfasser war bestrebt, die Auswahl der Basen möglichst vielseitig zu gestalten. Abgesehen davon, dass die Anschaffungs- und Synthetisierungsmöglichkeiten beschränkt waren, zeigte die Erfahrung, dass nur die Basen, deren Dissoziationskonstante annähernd zwischen 10^{-3} und 10^{-6} liegt, geeignet sind, mit der angewandten Methode untersucht zu werden. Ist die Konstante viel grösser als 10^{-3}, so ist es schwierig, eine für die lebende Zelle unschädliche Lösung der Base herzustellen, in der die Konzentration der freien Base die für die Experimente nötige Grösse hat. Ist die Konstante wiederum viel kleiner als 10^{-6}, so sind die Basen zu schwach, um in einer für die Zelle zuträglichen Konzentration die als Kriterium des Permeierens benutzten Erscheinungen herbeizuführen (vgl. später). Ausserdem muss die freie Base wenigstens bis zu einer Konzentration von etwa 0.0002-n in Wasser löslich sein.

Die untersuchten Basen sind in der umstehenden Tabelle zusammengestellt, in der neben der chemischen Formel, dem Molekulargewicht und der Dissoziationskonstante auch die berechneten Dissoziationsrestwerte ϱ der Basen bei den in den Experimenten am häufigsten benutzten ph-Werten angegeben sind.

Von diesen Verbindungen standen Brucin und Cevadin als freie Basen zur Verfügung, aber bei der Herstellung der Lösungen wurden sie immer in der berechneten Menge HCl aufgelöst. Die anderen waren alle in Salzform. Benutzt wurden Ammoniak und alle aliphatischen Monoamine als Hydrochloride, die aliphatischen Diamine als Dihydrochloride, Hydrazin als saures Sulfat, aromatische Amine als Hydrochloride; unter den heterozyclischen Basen waren Piperidin und Cocain als Hydrochloride, Atropin als neutrales Sulfat vorhanden. Von diesen Verbindungen waren die anorganischen Basen, die aliphatischen Monoamine und Äthylendiamin sowie Benzylamin, Piperidin und Brucin von Kahlbaum, Putrescin und Cadaverin von Hoffman-La Roche, Cevadin von Merck, Novocain, Atropin und Cocain aus der hiesigen Universitätsapotheke bezogen und Trimethylendiamin von dem Verfasser selbst synthetisiert (Methode von Fischer und Koch 1884).

Was die Diamine betrifft, mag darauf aufmerksam gemacht werden, dass von ihnen nur die erste Dissoziationsstufe berücksichtigt wird, die zweite Dissoziationskonstante ist schon verschwindend klein. Die Dissoziations-

Tabelle 1.

Base	Formel	Mol.-Gew.	Dissoziationskonstante K	°C	Autor	Dissoziationsrest ϱ bei ph 8	ph 9	ph 9.6	ph 10.5	ph 10.7	ph 11.5
Anorganische Basen											
Ammoniak	NH_3	17.03	$10^{-4.76}$	18°	Lundén 1908	0.054	0.37	0.70	0.95	0.97	0.99
Hydrazin	$NH_2 \cdot NH_2$	32.05	$10^{-6.10}$	20°	Poijärvi 1928	0.56	0.93	0.98	1.0	1.0	1.0
Aliphatische Monoamine											
Methylamin	$CH_3 \cdot NH_2$	31.05	$10^{-3.30}$	25°	Bredig 1894	0.0020	0.020	0.074	0.39	0.50	0.86
Trimethylamin	$(CH_3)_3 \cdot N$	59.08	$10^{-4.13}$	25°	» »	0.013	0.12	0.35	0.81	0.87	0.98
Diäthylamin	$(C_2H_5)_2 \cdot NH$	73.10	$10^{-2.90}$	25°	» »	0.00079	0.0080	0.031	0.20	0.29	0.72
i-Amylamin	$(CH_3)_2 \cdot CH \cdot (CH_2)_2 \cdot NH_2$	87.11	$10^{-3.30}$	25°	» »	0.0020	0.020	0.074	0.39	0.50	0.86
Glucosamin	$HO \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot (CHOH)_3 \cdot CHO$	179.1	$10^{-6.20}$	20°	Poijärvi 1928	0.61	0.94	0.98	1.0	1.0	1.0
Aliphatische Diamine											
Äthylendiamin	$NH_2 \cdot (CH_2)_2 \cdot NH_2$	60.08	$10^{-4.07}$	25°	Bredig 1894	0.012	0.11	0.32	0.79	0.86	0.97
Trimethylendiamin	$NH_2(CH_2)_3 \cdot NH_2$	74.10	$10^{-3.46}$	25°	» »	0.0029	0.028	0.10	0.49	0.60	0.90
Tetramethylendiamin (Putrescin)	$NH_2(CH_2)_4 \cdot NH_2$	88.12	$10^{-3.29}$	25°	» »	0.0020	0.020	0.072	0.38	0.50	0.86
Pentamethylendiamin (Cadaverin)	$NH_2(CH_2)_5 \cdot NH_2$	102.13	$10^{-3.13}$	25°	» »	0.0014	0.013	0.051	0.30	0.40	0.81
Aromatische Basen											
Benzylamin	$C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot NH_2$	107.08	$10^{-4.62}$	25°	» »	0.040	0.29	0.62	0.93	0.95	0.99
Novocain	$C_{13}H_{20}N_2O_2$	237.6	$10^{-5.15}$	15°	Kolthoff 1923	0.12	0.59	0.85	0.99	0.99	1.0
Heterozyclische Basen											
Piperidin	$C_5H_{11}N$	85.10	$10^{-2.80}$	25°	Bredig 1894	0.00063	0.063	0.025	0.17	0 24	0.67
Atropin	$C_{17}H_{23}NO_3$	289.19	$10^{-4.35}$	15°	Kolthoff 1923	0.0022	0.18	0.47	0.88	0.92	0.99
Cocain	$C_{17}H_{21}NO_4$	303.18	$10^{-5.59}$	15°	» »	0.28	0.80	0.94	0.99	1.0	1.0
Brucin	$C_{23}H_{26}N_2O_4$	394.23	$10^{-6.04}$	15°	» »	0.52	0.92	0.98	1.0	1.0	1.0
Cevadin	$C_{32}H_{49}NO_9$	591.4	$10^{-5.15}$	15°	» »	0.12	0.59	0.85	0.98	0.99	1.0

konstanten und Löslichkeiten der heterozyclischen Basen und des Novocains sind der Veröffentlichung von KOLTHOFF (1925) entnommen, die anderen Dissoziationskonstanten stammen teilweise aus der Arbeit LUNDÉN's (1908), teilweise aus denen KOLTHOFF's (1923 und 1925), wobei immer der neueste Wert genommen worden ist, wenn unter mehreren zu wählen war. Für Glucosamin und Hydrazin wurden die Konstanten vom Verfasser selbst in folgender Weise bestimmt (vgl. KOLTHOFF l. c.):

Die Dissoziationskonstante der Base ist gleich der Hydroxylionenkonzentration der Lösung, in der die Base zur Hälfte frei ist. Eine solche Lösung wurde hergestellt (z. B. 10 ccm 0.1-m Glucosamin-HCl + 5 ccm 0.1-m NaOH) und ihre $[OH'] = K_{H_2O} : [H'] = K_{BOH}$ kolorimetrisch bestimmt. Die Ergebnisse der beiden zu verschiedenen Zeiten ausgeführten Bestimmungen mit den betreffenden Stoffen sind folgende:

Hydrazin	$K_{BOH} = 10^{-6.15}$	(20°)	Phenolrot	u.	Kresolrot	im	Komparator
»	» $= 10^{-6.0}$	»	»	»	»	»	»
Mittel	$10^{-6.1}$	»	»	»	»	»	»

Glucosamin	$K_{BOH} = 10^{-6.1}$	(20°)	Phenolrot	u.	Kresolrot	im	Komparator
»	» $= 10^{-6.3}$		»	»	»	»	»
Mittel	$= 10^{-6.2}$		»	»	»	»	»

Zum Vergleich wurde in derselben Weise die Dissoziationskonstante des Ammoniaks, des Methylamins und des i-Amylamins bestimmt.
Das Ergebnis war:

Ammoniak	$K_{BOH} = 10^{-4.7}$ bis $10^{-4.8}$	(20°)	(nach	LUNDÉN	1908	$10^{-4.76}$;	25°)
Methylamin	» $= 10^{-3.3}$	»	»	»	»	$10^{-3.3}$	»
i-Amylamin	» $= 10^{-3.3}$	»	»	»	»	$10^{-3.3}$	»

Das Ergebnis stützt die mit Hydrazin und Glucosamin erzielten Werte und zeigt auch, dass ein Unterschied von 5° in der Bestimmungstemperatur mit der Indikatormethode nicht zum Vorschein zu kommen scheint, so dass die Werte von Lundén, Bredig u. a. als solche für die folgenden Experimente anwendbar sein werden. Es ist zu bemerken, dass der jetzt bestimmte Wert des Hydrazins bedeutend von dem von BREDIG (1894) abweicht. Im folgenden wurde jedoch immer der neue Wert als der wahrscheinlichere benutzt, da Bredig von seinem eigenen sagt (l. c. S. 308): »Die Konstanz der Werte K ist sehr mangelhaft, weil einerseits die von mir benutzte Hydrazinlösung unmittelbar vorher zu anderweitigen Messungen gedient hatte, andererseits das Hydrazin sehr schnell von den Platinelektroden oxydiert wird.»

Als lebende Objekte dienten in den Versuchen die Epidermiszellen der Unterseite der Blattrippe von *Rhoeo* (*Tradescantia*) *discolor*, die Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* und die Wurzelzellen von *Lemna minor*.

Im folgenden werden die Experimente und Ergebnisse jedes Objekts getrennt dargestellt, zuerst die Versuche mit *Rhoeo discolor*, da sie die vollständigsten und ihren Ergebnissen nach deutlichsten sind.

I. Experimente mit Rhoeo discolor.

A. Methodik

a. Ausführung der Versuche.

In der Mediane der Blattmittelrippe von *Rhoeo discolor* wurden mit dem Rasiermesser zuerst ein Längsschnitt und dann in Abständen von je 3—4 mm mehrere Querschnitte gemacht. Ein tangentialer Schnitt lieferte schliesslich die nötige Menge $^1/_2$—1 mm dicke, von gleichmässigen Zellreihen gebildete Epidermisplättchen, die in den Experimenten benutzt wurden.

Die Methode beruht darauf, dass die Base, wenn sie in die Epidermiszellen eindringt, die [OH'] im Zellsaft erhöht, was man daraus ersieht, dass die rotviolette Farbe des Zellsaftes blau wird. Als Beleuchtung wurde zuerst Tageslicht benutzt. Weil dieses aber nach der Farbe der Lichtquelle (blauer Himmel, weisse Wolken, dunkle Wolken) bedeutend wechselte, wurde in den meisten Versuchen elektrisches Licht angewandt. Um die Methode möglichst quantitativ zu machen, wurde bei der Beobachtung des Farbenumschlags folgendermassen verfahren:

Erstens musste ein allen Basen gemeinsamer, immer leicht zu beobachtender Punkt in der Verfärbung des Anthocyans bestimmt werden. Um einen solchen zu finden, wurde die Farbenskala des Anthocyans von ph = 2 bis ph = 12 bestimmt, und zwar so, dass die Schnitte getötet wurden, indem sie mit einer Pinzette 20″ lang in kochendem Wasser gehalten und rasch in eine Pufferlösung getan wurden, in der das gewünschte ph herrschte. Der Puffer drang rasch in die toten Zellen ein und gab ihrem Anthocyan, das ziemlich langsam aus der Zelle diffundierte, den betreffenden Farbenton, welcher also sehr gut beobachtet werden konnte. Der durch den Puffer verursachte Farbenton wurde mit einem Mikroskop beobachtet (Leitz, Okular 4, Objektiv 3), mit einer danebengehaltenen Farbentabelle verglichen (Klincksieck & Valette 1908) und die Ziffer der Farbe, die ihrer Nuance entsprach, notiert. Nach der Farbentabelle wurden dann die betreffenden Nuancen auf Papierstreifen gemalt, und aus diesen wurde eine Farbenskala zusammengestellt.

Wegen der Kontrolle wurde die Herstellung der Skala auch so ausgeführt, dass die Zellen im äther- und formalinhaltigen Puffer vom erwünschten ph-Wert getötet wurden. Das Ergebnis stimmte in befriedigender Weise mit dem vorhergehenden überein.

Die Farbenskala wurde sowohl mit Sonnen- als mit elektrischem Lichte bestimmt. Aus beiden geht hervor, dass die Farbenveränderung des Anthocyans auf der sauren Seite des Neutralpunktes sehr gering ist. Der ursprüngliche Farbenton der Zelle entspricht nach der Skala ph = 5—6, die ihrer Nuance nach fast ganz gleich sind. Bei ph = 7 wird eine kaum bemerkbare Veränderung ins Bläuliche beobachtet, bei ph = 8 ist die Veränderung schon deutlich, wenn auch schwach sichtbar, bei ph = 9 war das Blauwerden noch deutlicher. Bei ph = 10 begann eine grünlich-blaue Nuance, die bei höheren ph-Werten zuerst rein grün und dann grüngelb wurde. Als Grundlage der Methode wurde nun die Bestimmung des Augenblicks gewählt, in dem die Verfärbung zum ersten Male deutlich beobachtet werden konnte, also als ph innerhalb der Zellen bis auf ca. 8 gestiegen war.

Da die Cuticula die benutzten Basen nicht merklich durchlässt, so dringt der permeierende Stoff in die Epidermiszellen vom Rande des Schnittes aus ein, so dass der Farbenumschlag ganz regelmässig von Zellreihe zu Zellreihe fortschreitet. Ausserdem dringen die Basen natürlich auch von unten in den Schnitt hinein, aber auf diesem Wege müssen sie zuerst ein fünf bis sechs Zellschichten dickes, farbloses Mesophyllgewebe durchwandern und erreichen so die Epidermis erst, nachdem bereits die 5—6 äussersten Epidermiszellenreihen vom Rande aus blau geworden sind.

Im folgenden wurde nur der Farbenumschlag in der ersten Reihe der Epidermiszellen als Grundlage der Berechnungen benutzt, weil, wenn zwei oder mehrere Reihen blau geworden sind, die aufeinanderfolgenden Reihen einen deutlich verschiedenen Farbenton haben und somit offenbar Basenkonzentrationen sehr verschiedener Grösse enthalten.

Wenn es sich um rasch permeierende Basen handelte, waren schon bei der ersten Beobachtung — wenn sie, wie dies öfters geschah, nach Ablauf von 15 Minuten ausgeführt wurde — in der Regel mehr als eine Zellreihe verfärbt. Die Zeit der Verfärbung der ersten Reihe wurde in diesem Fall so gewonnen, dass das Fortschreiten der Verfärbung auf Grund der sie wiedergebenden Kurve geschätzt wurde (vgl. unten), die, wenn es sich um solche Basen handelt, beinahe gerade ist, wie Experimente, in denen die Beobachtung jede dritte Minute ausgeführt wurde, deutlich an die Hand geben.

Um einen deutlichen Begriff davon zu geben, wie die Versuche ausgeführt wurden, soll hier ein solcher beschrieben werden:

Zu untersuchen waren Ammoniak, Hydrazin und Glucosamin. Die Kon-

zentration des Ammoniaks betrug in der Aussenlösung $9.5 \cdot 10^{-4}$, die des Hydrazins $2 \cdot 10^{-3}$ und die des Glucosamins $2.3 \cdot 10^{-3}$.

Die Lösungen, deren Volumen je 100 ccm betrug, wurden auf einem durch einen elektrischen Motor getriebenen Schütteltisch in Erlenmeyerkolben von 200 ccm Grösse geschüttelt, deren Mündung mit einem Gummipfropfen verschlossen war. In jeder Lösung befanden sich 2 Schnitte, die alle 15′ mikroskopisch untersucht wurden, wobei die Schnitte in einem dazugehörigen Tropfen der Lösung vermittels eines Glasröhrchens schnell auf ein Objektglas gebracht wurden.

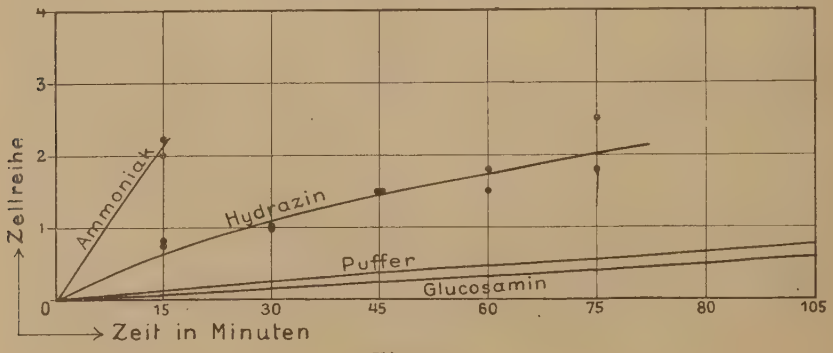
Das Versuchsprotokoll sieht folgendermassen aus:

Tabelle 2.

Temp. = 21.5° C. ph = 10.5 (Ringer-Puffer, zweifach verd.)

Zeit	Ammoniak	Hydrazin	Glucosamin	Reiner Puffer
15′	2 Reihen blau	1—Reihen blau	0 Reihen blau	0 Reihen blau
	2+ » »	1— » »	0 » »	0 » »
30′		1 » »	0 » »	0 » »
		1 » »	0 » »	0 » »
45′		1½ » »	0 » »	0 » »
		1½ » »	0 » »	0 » »
60′		1½ » »	0 » »	0 » »
		2— » »	0 » »	0 » »
75′		2— » »	0 » »	0 » »
		2½ » »	+ » »	+ » »
90′			+ » »	+ » »
			+ » »	+ » »
105′			1— » »	1— » »
			½ » »	1— » »

Aus dem Protokoll geht hervor, dass das Fortschreiten des Farbenumschlags minutiöser als mit der Genauigkeit einer Zellreihe abgeschätzt wurde. Die



Figur 1.

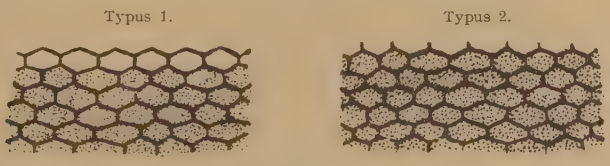
Abschätzung ist natürlich recht willkürlich, trägt aber wohl immerhin dazu bei, die Methode bis zu einem gewissen Grade mehr quantitativ zu machen.

Behufs genauerer Bestimmung der Verfärbungszeiten der ersten Reihe wurden die Protokollwerte graphisch, die Zeit als Abszisse, die Anzahl der gefärbten Zellreihen als Ordinate, dargestellt. (Vgl. Figur 1.)

Hieraus ergibt sich die Verfärbungszeit der ersten Reihe:

Ammoniak	6′
Hydrazin	28′
Glucosamin	$>120'$
Pufferlösung allein	$>120'$

Um das Fortschreiten der Verfärbung genau kontrollieren zu können, ist es notwendig, bei den Versuchen, die miteinander verglichen werden sollen, aus einer grösseren Schnittmenge möglichst genau längs einer und derselben Zellreihe geschnittene Schnitte zu wählen. Bei solchen Versuchen muss dafür gesorgt werden, dass die Ränder der verschiedenen Schnitte einander gleich sind. Es gibt nämlich 2 Haupttypen der Schnitte:



Figur 2.

in deren Verhalten ein gewisser Unterschied zu beobachten ist. Die erste noch farbige Zellreihe des Typus 2 ist bedeutend weniger widerstandsfähig als die erste farbige Zellreihe des Typus 1, und ausserdem verlangsamt die erste leere Zellreihe des Typus 1 offenbar bedeutend die Diffusion der Base in die erste farbige Reihe, ein Umstand, der bei Typus 2 infolge seiner Struktur nicht in Betracht kommt.

Wenn es sich um schwächere, sehr rasch in die Zellen eindringende Basen handelt, ist der Farbenumschlag in den Zellen verhältnismässig undeutlich. In diesem Fall ist es am besten, bei der Prüfung des Schnittes einen in reinem Leitungswasser liegenden Schnitt, der seinen ursprünglichen Farbenton beibehalten hat, zum Vergleich daneben zu halten.

b. Berechnung der P-Werte.

Bei der Besprechung der allgemeinen Grundsätze, welche bei Untersuchungen über das Permeiervermögen schwacher Basen zu berücksichtigen sind, kamen wir zu dem Ergebnis, dass die in der Zeiteinheit permeierte Menge einer

schwachen Base dividiert durch das zwischen Aussenlösung und Zellsaft bestehende Diffusionsgefälle in bezug auf die undissoziierten Moleküle dieser Base als rationelles Mass ihres Permeiervermögens zu gelten hat. Hier ist nun zu erörtern, wie dieser Grundsatz praktisch verwirklicht werden kann.

Bärlund (1929) benutzt als exaktes Mass des Permeiervermögens von Nichtelektrolyten die Permeationskonstante P, deren Berechnung gemäss der folgenden Gleichung geschieht:

$$\frac{dx}{dt} = P \cdot (C - x),$$

worin dx die in der Zeit dt eingedrungene Stoffmenge, C die Konzentration des permeierenden Stoffes in der Aussenlösung und x seine Konzentration im Zellsaft bedeutet.

Die Anwendbarkeit dieser Gleichung in obiger Fassung setzt voraus, 1) dass der Permeationsvorgang den Diffusionsgesetzen gehorcht, 2) dass nach erreichtem Permeationsgleichgewicht auch Konzentrationsgleichheit zwischen Aussenlösung und Zellsaft in bezug auf den permeierenden Stoff herrscht, 3) dass die Konzentration der Aussenlösung während des Versuches konstant bleibt und 4) dass der permeierende Stoff nicht innerhalb der Zelle in eine andere Verbindung übergeführt wird.

Die erste dieser Bedingungen kann aus Gründen, die vorhin angeführt sind, bei den in der vorliegenden Arbeit behandelten Versuchen als erfüllt angesehen werden. Auch einige später anzuführende Versuchsergebnisse sprechen für die Berechtigung dieser Voraussetzung.

Das annähernde Zutreffen der zweiten Bedingung ist wohl von vornherein plausibel, sofern es sich um Zellen handelt, die keinen zu sehr konzentrierten Zellsaft führen, und sofern das Permeieren allein auf Diffusion — also nicht auf adenoider Tätigkeit der Protoplasten — beruht. Auch experimentelle Ergebnisse lassen sich als Stützen dieser Annahme anführen. So z. B. stellten Osterhout (1925) und Osterhout und Dorcas (1925) durch direkte Zellsaftanalysen fest, dass H_2S und CO_2 sich zwischen dem Zellsaft der lebenden *Valonia*-Zelle und dem umgebenden Meerwasser ziemlich genau im Konzentrationsverhältnis 1 : 1 verteilen. Bärlund (1929) hat wiederum auf plasmolytischem Wege festgestellt, dass zahlreiche Nichtelektrolyte in Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* recht genau bis zur Konzentrationsgleichheit mit der Aussenlösung eindringen. Da nun eben die Epidermiszellen von *Rhoeo* das Hauptversuchsobjekt der vorliegenden Untersuchung darstellen und da ein prinzipieller Unterschied im Verhalten der undissoziierten Basenmoleküle verglichen mit den Molekülen der Nichtelektrolyte unwahrscheinlich ist, so scheint die Annahme in der Tat gut gestützt, dass nach erreichtem Permea-

tionsgleichgewicht auch eine ungefähre Konzentrationsgleichheit zwischen Aussenlösung und Zellsaft in bezug auf die undissoziierten Basenmoleküle herrscht. Auch einige später zu besprechende Versuchsergebnisse zeugen für die Richtigkeit dieser Annahme.

Dagegen will IRWIN (1926) gefunden haben, dass die Konzentration der undissoziierten Brilliantcresylblaubase bei erreichtem Gleichgewicht im Zellsaft von *Nitella* erheblich kleiner als in der umgebenden Pufferlösung ist. — Übrigens verdient hervorgehoben zu werden, dass die obige Gleichung, auch wenn die zweite Bedingung nicht genau erfüllt ist, gut anwendbar ist, sofern man nur dafür sorgt, dass in den Experimenten das zu erwartende Gleichgewicht noch lange nicht erreicht wird. In den vorliegenden Versuchen war dies wirklich meistens der Fall, da — abgesehen von den allerschwächsten untersuchten Basen — das Diffusionsgefälle sich höchstens um 10 % (gewöhnlich nicht um mehr als 1—2 %) seines Anfangswertes verminderte.

Die dritte Bedingung ist durch zweckentsprechende Wahl der Versuchsanordnung leicht zu verwirklichen.

Dagegen ist die vierte der oben aufgezählten Bedingungen für die Anwendbarkeit der von BÄRLUND benutzten Gleichung in unserem Falle offenbar nicht erfüllt. Denn wenn die undissoziierten Basenmoleküle in eine mit saurem Zellsaft ausgestattete Zelle eindringen, findet selbstverständlich eine teilweise Dissoziation derselben statt unter Bildung von praktisch permeierunfähigen Ionen, welche an der Verminderung des Diffusionsgefälles keinen Anteil nehmen. Unter solchen Umständen tritt an Stelle der Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = P \cdot (C - x)$$

die neue Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = P \cdot (C - c),$$

worin dx die Totalmenge der während der Zeit dt permeierten Base (einerlei, ob dieselbe sich in Molekül- oder Ionenform im Zellsaft befindet) bedeutet, während C die Konzentration der undissoziierten Basenmoleküle in der Aussenlösung und c ihre Konzentration im Zellsaft bedeutet. C—c gibt also die Grösse des treibenden Diffusionsgefälles an. In dieser Form lässt sich aber die Gleichung nicht integrieren, da man die gegenseitige Abhängigkeit von dx und c nicht feststellen kann.

Glücklicherweise kann man jedoch anstatt der obigen Differentialgleichung eine einfache approximative Gleichung aufstellen, die zum Berechnen von P gut brauchbar ist. Diese Gleichung lautet:

$$P = \frac{x}{t} : \frac{C + (C - c)}{2}.$$

Hierin bedeutet x die in der Zeit t permeierte totale Basenmenge, C die konstante Konzentration der undissoziierten Base in der Aussenlösung und c ihre Endkonzentration im Zellsaft. $\frac{C+(C-c)}{2}$ gibt somit das mittlere Diffusionsgefälle in bezug auf die undissoziierten Basenmoleküle an. Für diese Gleichung wird fernerhin die Bezeichnung: *die approximative Permeationsgleichung* benutzt. Die mit ihrer Hilfe berechneten P-Werte weichen offenbar von den theoretischen P-Werten um so weniger ab, je weniger sich das Diffusionsgefälle während des Versuchs verkleinert hat. Da nun die Verkleinerung des Gefälles meist nur 1—2 % betrug und nur bei den allerschwächsten Basen 10 % überstieg, so fallen im allgemeinen die von der Anwendung der approximativen Gleichung verursachten Fehler praktisch gar nicht ins Gewicht.

Um die approximative Permeationsgleichung zur Berechnung der P-Werte benutzen zu können, müssen zunächst in jedem Versuch die Grössen x, t, C und c bestimmt werden.

Der Wert von t wird direkt bestimmt; er bezeichnet ja die Zeit, welche vergeht, ehe der ph-Wert des Zellsaftes auf 8 gestiegen ist. Da bei Benutzung der Sekunde oder Minute als Zeiteinheit die P-Werte unbequem klein sein würden, wird in der vorliegenden Arbeit die Stunde als Zeiteinheit gewählt.

Sehr einfach gestaltet sich auch die Bestimmung der Konzentration C der freien Base in der Aussenlösung, da die Base in Pufferlösung[1]) gelöst ist und das ph der derart erhaltenen Mischung kolorimetrisch bei Beginn und Abschluss des Versuchs bestimmt wurde. Mit Hilfe des ph-Wertes und der Dissoziationskonstante der Base berechnet man ϱ vermittels der Gleichung $\varrho = \frac{1}{1 + K_{BOH} \cdot \frac{[H^{\cdot}]}{K_{H_2O}}}$ (Michaelis 1922). Die Konzentration der freien Base in der Aussenlösung ist dann gleich der Totalkonzentration der Stickstoffbase multipliziert mit ϱ. C verbleibt während des Versuchs konstant, denn erstens ist die Menge der Lösung im Vergleich zum Volumen der Zellen eine sehr grosse, und zweitens enthält die Lösung, infolge der Anwendung von relativ niedrigen ph-Werten, reichliche Mengen der Stickstoffbase in Ionenform, so dass an Stelle der verbrauchten Basenmoleküle stets neue nachgeliefert werden können. Die Lösung ist also ausser in bezug auf die OH'-Ionen auch in bezug auf die Basenmoleküle gepuffert.

Die Bestimmung von c. — Etwas komplizierter gestaltet sich die Bestimmung der Konzentration der freien Base, c oder [BOH], im Zellinnern in dem Augenblick, wo ph im Zellsaft auf 8 gestiegen ist. Dies geschieht folgendermassen:

---

[1]) Sämtliche Puffergemische wurden nach den Vorschriften von KOLTHOFF (1923) bereitet; nur das Carbonatgemisch von Auerbach und Pick wurde nach CLARK (1923) hergestellt.

Es wird für eine bestimmte Base diejenige Minimalkonzentration der freien Base in der Aussenlösung aufgesucht, welche eben noch im stande ist, den ph-Wert des Zellsaftes auf 8 zu erhöhen. Dann ist die Konzentration der freien Base im Zellinnern, der S. 32 angeführten Arbeitshypothese gemäss, annähernd gleich der Konzentration der freien Base in der Aussenlösung.

Die Bestimmung der Minimalkonzentration wurde zuerst für Ammoniak der Sicherheit wegen bei verschiedenen ph-Werten der Aussenlösung vorgenommen. Die Versuche wurden an einem Schütteltisch ausgeführt. Die Menge der Lösungen betrug je 100 ccm. In jeder Lösung befanden sich je zwei Schnitte. Die Schnitte wurden sowohl mikroskopisch (bei elektrischem Licht) als auch makroskopisch untersucht und dabei mit einem in reinem Leitungswasser liegenden normalen Schnitt verglichen. Nach Ablauf von 2 Stunden (allem Anschein nach bereits früher) ist das Gleichgewicht zwischen Aussenlösung und Zellsaft annähernd erreicht, da sich bei fortgesetztem Schütteln der Färbungszustand in den Lösungen nicht mehr verändert. Die Resultate gehen aus der nachstehenden Zusammenstellung hervor, wo $[BOH]_{NH_3}$ die Konzentration der undissoziierten Moleküle des Ammoniaks in der Aussenlösung, also $[NH_3]+[NH_4OH]$ bezeichnet. Hier sind, wie überhaupt in der vorliegenden Arbeit, die Konzentrationen stets in Gramm-Molekülen bzw. Gramm-Ionen pro Liter ausgedrückt.

Versuchsreihe I. Temp. 20° C. ph der Aussenlösung = 7 (Sörensen's Phosphatpuffer, unverd.). Die Schnitte wurden mindestens 2 Stunden (meist sogar bedeutend länger) in der Lösung geschüttelt.

$[BOH]_{NH_3}$:	$5 . 10^{-5}$	$2.5 . 10^{-5}$	$1.25 . 10^{-5}$	$0.63 . 10^{-5}$
Verfärbung:	Deutlich	Wahrnehmbar	Beinahe 0	0

Versuchsreihe II. Temp. 20° C. ph der Aussenlösung = 9.6 (Carbonatpuffer nach Auerbach und Pick, unverd.). Die Schnitte wurden mindestens 2 Stunden in der Lösung geschüttelt.

$[BOH]_{NH_3}$:	$5 . 10^{-5}$	$2.5 . 10^{-5}$	$1.25 . 10^{-5}$	$0.63 . 10^{-5}$
Verfärbung:	Ziemlich deutlich	Wahrnehmbar	Beinahe 0	0

Versuchsreihe III. Temp 20° C. ph der Aussenlösung = 10.5 (Phosphatpuffer nach Ringer, zweifach verd.). Die Schnitte wurden nur eine Stunde in der Lösung geschüttelt, um sicher zu sein, dass die Zellen gesund waren. Wegen beschränkter Zeit wurde nicht der ganze Schnitt, sondern nur die 4—5 ersten Randzellenreihen untersucht.

$[BOH]_{NH_3}$:	$5 . 10^{-5}$	$2.5 . 10^{-5}$	$1.25 . 10^{-5}$	$0.63 . 10^{-5}$
Verfärbung:	Deutlich	Ziemlich deutlich	Beinahe 0	0

In sämtlichen Versuchen lag also die gesuchte Minimalkonzentration zwischen $2.5 \cdot 10^{-5}$ und $1.25 \cdot 10^{-5}$.

Die Konzentration der freien Ammoniakbase in den Epidermiszellen der Blattunterseite von *Rhoeo discolor* ist also, wenn der ph-Wert des Zellsaftes ungefähr 8 beträgt, etwa $1.8 \cdot 10^{-5}$. Aus den Versuchen ergibt sich ferner der Eindruck, dass das Ammoniak vorzugsweise in undissoziiertem Zustand (als NH_3 oder NH_4OH) und nicht in dissoziiertem Zustand (als $NH_4^{\cdot}$-Ion zusammen mit OH') permeiert. Denn zur Erzielung einer bestimmten Blaufärbung war bei sehr verschiedenen $NH_4^{\cdot}$- und OH'-Konzentrationen in der Aussenlösung doch immer eine gleichgrosse Konzentration des freien Ammoniaks nötig.

Allerdings wäre ja nun auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die $NH_4^{\cdot}$- und OH'-Ionen zusammen in beträchtlichem Masse permeierten und dass ihre Permeiergeschwindigkeit dem Produkt ihrer Konzentrationen, also dem Ausdruck $[NH_4^{\cdot}] \cdot [OH']$ direkt proportional wäre. Dieser ist wiederum der Konzentration der undissoziierten Ammoniakmoleküle proportional, woraus auch eben folgt, dass vom rein formellen Standpunkt aus die eben angeführten Resultate ebensogut mit Hilfe der einen wie der anderen Hypothese erklärt werden können. Die Annahme einer wesentlichen Permeation der $NH_4^{\cdot}$- und OH'-Ionen in einander äquivalenten Mengen hat indessen nur sehr wenig Wahrscheinlichkeit für sich u. a. in Anbetracht dessen, dass die Permeabilität lebender Zellen für Ionen sich im allgemeinen als nur sehr gering erwiesen hat.

Der Umstand, dass auch im angewandten Carbonatpuffer ungefähr die gleiche Minimalkonzentration wie in anderen Puffern erhalten wurde, beweist, dass die Methode nur als sehr approximativ und der erhaltene Wert als ungenau bewertet werden müssen: es müsste nämlich in diesem Puffer — vorausgesetzt, dass die Kohlensäure annähernd bis zum Konzentrationsgleichgewicht eingedrungen ist, was man annehmen darf, da sie bekanntlich schnell permeiert, — die Minimalkonzentration 5 mal so gross wie im carbonatfreien Puffer sein (vgl. später). — Es ist natürlich auch möglich, dass die zum Versuch mit Carbonatpuffer verwandten Zellen zufälligerweise weniger Säure enthielten als die übrigen.

Die Grösse c, d. h. die intrazellulare [BOH] am Ende des Versuchs ist bei den einzelnen untersuchten Basen verschieden gross, und zwar je nach der Stärke der Base, da es ja selbstverständlich, um den ph-Wert des Zellsaftes bis auf 8 zu erhöhen, einer grösseren Menge schwacher als starker Basen bedarf. Auf Grund des angeführten Ammoniakversuches lässt sich nun auch die intrazellulare [BOH] der übrigen Basen bei ph = 8 berechnen.

Das Ammoniak dissoziiert nach der Gleichung:

$$\frac{[NH_4^{\cdot}] \cdot [OH']}{[BOH]_{NH_3}} = K_{NH_3}.$$

Wenn im Zellinnern ph = etwa 8 und also $[OH'] = 10^{-6}$ ist, so ist nach dem soeben angeführten Ammoniakversuch die Konzentration der undissoziierten Moleküle $[BOH]_{NH_3}$ im Zellinnern gleich $1.8 \cdot 10^{-5}$. K_{NH_3} ist gleich $10^{-4.76}$. Von den vier Grössen der dargestellten Formel ist also nur $[NH_4^{\cdot}]$ unbekannt. Löst man die Gleichung in bezug auf diese Grösse, so erhält man als Wert für $[NH_4^{\cdot}]$ bei ph = 8 im Zellinnern annähernd $3.2 \cdot 10^{-4}$. Da nun stets auch in bezug auf sämtliche übrigen Basen der Moment untersucht wird, wo ph in der Zelle ca. 8 beträgt, so ist, selbstverständlich unter der Voraussetzung, dass die Äquivalentmenge der sauren Bestandteile der Zellen in den einzelnen Blättern ungefähr die gleiche verbleibt, die Ionenkonzentration der einzelnen Basen unter diesen Umständen stets ungefähr die gleiche, also $3.2 \cdot 10^{-4}$.

Die Berechtigung der soeben aufgestellten Behauptung erhellt aus folgendem: In dem Zellsaft muss bei ph = 8 — damit Elektroneutralität herrschen kann — die Summe der positiven und negativen Ladungen gleich gross sein. Ausser den neutralen Elektrolyten, welche auf die Reaktion des Zellsaftes keinen Einfluss haben und deren positive und negative Ladungen gleich gross sind (sie sollen je mit a bezeichnet werden), gibt es in dem Zellsaft positive Ladungen $[B^{\cdot}]$ und $[H^{\cdot}]$ und negative Ladungen [A'] und [OH']. [A'] stammt aus der im Zellsaft als konstant angenommenen Säurenmenge und ist also bei bestimmtem ph-Wert konstant. Der Elektroneutralität zufolge ist also $a+[B^{\cdot}]+[H^{\cdot}] = a+[A']+[OH']$. Da nun ph immer 8 ist, sind $[H^{\cdot}]$ und [OH'] Konstanten und muss also auch $[B^{\cdot}]$ unabhängig von der Beschaffenheit der Base konstant sein.

Da die Basen ganz allgemein gemäss der Gleichung

$$\frac{[B^{\cdot}]\,[OH']}{[BOH]} = K_{BOH}$$

dissoziieren und da nach dem vorher Gesagten $[B^{\cdot}] = 3.2 \cdot 10^{-4}$ und $[OH'] = 10^{-6}$ und ausserdem die Dissoziationskonstanten der Basen bekannt sind, so kann für jede Base [BOH] im Beobachtungsmoment (ph in der Zelle also ungefähr 8) durch Auflösung dieser Gleichung berechnet werden. In dieser Weise findet man die unten angegebenen Werte für die Konzentration der undissoziierten Basen im Zellsaft, wenn sein ph-Wert auf 8 gestiegen ist:

Piperidin	$2 \cdot 10^{-7}$	Atropin	$7 \cdot 10^{-6}$
Diäthylamin	$3 \cdot 10^{-7}$	Benzylamin	10^{-5}
Cadaverin	$4 \cdot 10^{-7}$	Ammoniak	$2 \cdot 10^{-5}$
Putrescin	$6 \cdot 10^{-7}$	Cevadin	$5 \cdot 10^{-5}$
i-Amylamin	$6 \cdot 10^{-7}$	Novocain	$5 \cdot 10^{-5}$
Methylamin	$6 \cdot 10^{-7}$	Cocain	10^{-4}
Trimethylendiamin	$9 \cdot 10^{-7}$	Brucin	$4 \cdot 10^{-4}$
Äthylendiamin	$4 \cdot 10^{-6}$	Hydrazin	$4 \cdot 10^{-4}$
Trimethylamin	$4 \cdot 10^{-6}$	Glucosamin	$5 \cdot 10^{-4}$

Um eine Bestätigung der derart berechneten Werte zu erhalten, wurde noch die Minimalkonzentration für das i-Amylamin experimentell aufgesucht. Das i-Amylamin wurde deshalb gewählt, weil es sich in bezug auf Stärke, Molekülgrösse, Lipoidlöslichkeit und Oberflächenaktivität (vgl. weiterhin) sehr wesentlich vom Ammoniak unterscheidet, jedoch schnell permeiert, so dass das Gleichgewicht rasch hergestellt wird, bevor noch die Zellen gelitten haben.

Temp. = 20°. ph der Aussenlösung = 7 (Sörensen's Phosphatpuffer nicht verd.).

$[BOH]_{Amylamin}$:	2.10^{-6}	10^{-6}	5.10^{-7}
Verfärbung:	Deutlich	Beinahe 0	0

Der Versuch zeigt, dass die gesuchte Minimalkonzentration des i-Amylamins zwischen 10^{-6} und 5.10^{-7} lag. Der auf Grund des voranstehenden Ammoniakversuchs theoretisch berechnete Wert des i-Amylamins ist 6.10^{-7}. Das erzielte experimentelle Resultat bestätigt also die approximative Richtigkeit der theoretisch berechneten Werte.

Das letzterwähnte Experiment mit i-Amylamin weist in gleicher Weise wie der Ammoniakversuch auf das relativ geringe Permeiervermögen der Basenionen hin. Der Versuch scheint ferner für die Berechtigung der vorhin aufgestellten Arbeitshypothese zu sprechen, wonach, wenn Permeationsgleichgewicht zwischen dem Zellsaft und der die Zellen umgebenden Aussenlösung eingetreten ist, zugleich annähernde Konzentrationsgleichheit in bezug auf die undissoziierten Basenmoleküle herrschen soll. Denn sonst wäre die Übereinstimmung zwischen der experimentell bestimmten und der theoretisch berechneten Minimalkonzentration des i-Amylamins schwer zu verstehen.

Die Totalkonzentration der Base im Zellinnern. Nun braucht nur noch die Quantität x der approximativen Permeationsgleichung berechnet zu werden. Sie bezeichnet ja die Totalkonzentration der während der Versuchszeit eingedrungenen Base im Zellsaft und ist somit gleich $[BOH]+[B']$ im Zellinnern.

Im vorigen wurde für die einzelnen Basen [BOH] im Zellinnern berechnet, desgleichen wurde der allen Basen gemeinsame $[B']$-Wert zu $3.2 \cdot 10^{-4}$ bestimmt. Berechnet man nun hieraus die Totalkonzentrationen, so kommt man zu folgenden Werten:

Piperidin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Atropin	$3.3 \cdot 10^{-4}$
Diäthylamin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Benzylamin	$3.3 \cdot 10^{-4}$
Cadaverin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Ammoniak	$3.4 \cdot 10^{-4}$
Putrescin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Cevadin	$3.7 \cdot 10^{-4}$
i-Amylamin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Novocain	$3.7 \cdot 10^{-4}$
Methylamin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Cocain	$4.2 \cdot 10^{-4}$
Trimethylendiamin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Brucin	$7.2 \cdot 10^{-4}$
Äthylendiamin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Hydrazin	$7.2 \cdot 10^{-4}$
Trimethylamin	$3.2 \cdot 10^{-4}$	Glucosamin	$8.2 \cdot 10^{-4}$

Da nun x, t, C und c bekannt sind, lässt sich P aus der approximativen Permeationsgleichung berechnen.

c. Fehlerquellen.

Die Fehlerquellen bei derartigen Bestimmungen sind leider sehr gross.

Die grösste derselben ist wohl der Umstand, dass der Farbenumschlag des Anthocyans sehr unscharf ist und dass infolgedessen im Untersuchungsmoment der ph-Wert des Zellsaftes durchaus nicht sicher genau 8 ist, sondern stark variiert, so dass die berechneten Totalmengen und Diffusionsgefälle recht ungenaue Approximativwerte darstellen.

Zweitens scheint die Säureäquivalentmenge des Zellsaftes ansehnlich zu schwanken, eventuell im Zusammenhang mit der Jahres- und Tageszeit und damit, wie lange die Schnitte vor dem Versuch im Wasser gelegen hatten und wie weit also die Exosmose aus den Zellen vor sich gegangen war; ist es ja doch sehr wohl möglich, dass saure Bestandteile des Zellsaftes aus der Zelle diffundieren. Und es hätte in der Tat bei jedem einzelnen Versuch eigentlich für jedes Blatt die Minimalkonzentration der undissoziierten Moleküle der zu untersuchenden Base, die zur Steigerung des ph-Wertes auf 8 im Zellinnern erforderlich war, bestimmt werden müssen, um mit Hilfe des so erhaltenen Wertes die Totalmengen der Basen im Zellinnern und die mittleren Diffusionsgefälle in diesem Versuch berechnen zu können. Dieser Fehler wurde allerdings durch den Umstand abgeschwächt, dass bei den Versuchen beinahe immer drei verschiedene Basen an demselben Blatt geprüft wurden, wobei eine derselben Ammoniak war (vgl. weiter unten!). Infolge des Gesagten mussten zwecks Erzielung einigermassen sicherer Resultate möglichst zahlreiche Versuche gemacht werden.

Im Vergleich zu den obenerwähnten Fehlerquellen spielen die Fehler, welche bei der ph-Bestimmung in den benutzten Aussenlösungen gemacht werden, eine unbedeutende Rolle. Allerdings muss darauf geachtet werden, dass bei Benutzung der Indikatoren von Clark und Lubs, zu denen das häufig benutzte Phenolrot gehört, der Alkaloidfehler recht gross ist (vgl. Michaelis und Dernby 1922), so dass die ph-Werte der Cocain-, Atropin-, Brucin- und Cevadinlösungen bis zu einem gewissen Grade fehlerhaft sein können. Doch dürfte der Fehler nicht allzu gross sein, da die Versuchsergebnisse dieser Reihe mit den Versuchsergebnissen der anderen, in denen ph mit den alkaloidfehlerfreien einfarbigen Indikatoren von Michaelis bestimmt worden war, sehr gut übereinstimmen.

Eine Fehlerquelle, die vielleicht auch in Betracht zu ziehen wäre, ist die mögliche Bildung von Säuren in den Epidermiszellen unter dem Einfluss der eingedrungenen Basen. Über die Grösse dieser ganz hypothetischen Fehlerquelle lässt sich schwerlich etwas Bestimmtes aussagen. Der Umstand, dass die Versuchszeit im allgemeinen recht kurz war, lässt immerhin die Vermutung berechtigt erscheinen, dass diese Fehlerquelle keine grosse Rolle gespielt hat. —

Es mag noch besonders darauf hingewiesen sein, dass die Permeabilitätsbestimmungen ausgeführt wurden, bevor noch die Ätherlöslichkeit und Oberflächenaktivität der benutzten Basen bestimmt waren. Dieser Umstand ist offenbar von grosser Bedeutung, da im entgegengesetzten Fall, infolge der Ungenauigkeit der ph-Schätzung im Zellsaft, eine eventuelle Suggestion zu Gunsten eines bestimmten Parallelismus zwischen dem Permeiervermögen und den physikalischen Eigenschaften keineswegs undenkbar gewesen wäre.

B. Versuchsergebnisse.

a. Versuche mit kohlensäurefreien Lösungen.

ph der Aussenlösung $= 7.8 - 7.9$ (Bestimmung mit Phenolrot nach Gillespie). Hier wurden nur die schwächsten Basen, Hydrazin und Glucosamin, untersucht. ph $= 7.9$ wurde durch Herstellung einer Hydrazinlösung erhalten, in welcher das Hydrazin zur Hälfte in undissoziierter Form war (vgl. oben). Es wurde eine Lösung verwendet, in der die Gesamtkonzentration des Hydrazins 4.10^{-2} und die Konzentration der freien Base also 2.10^{-2} betrug. ph $= 7.8$ wurde in entsprechender Weise durch eine Glucosaminlösung erhalten, in der die Konzentration der freien Base ebenfalls 2.10^{-2} betrug. Resultat:

$$P_{\text{Hydrazin}} = 0.37 \qquad P_{\text{Glucosamin}} < 0.003$$

ph der Aussenlösung $= 8$ (Bestimmung mit Phenolrot wie oben). Zur Anwendung kam Sörensens unverdünnter Phosphatpuffer.

Wegen der Niedrigkeit des ph-Wertes wurden in dieser Serie nur 7 der allerschwächsten Basen untersucht. Die [BOH] des Ammoniaks in der Aussenlösung war 5.10^{-4}, und die [BOH] der übrigen wurde direkt proportional den Totalkonzentrationen der Basen im Zellinnern im Untersuchungsmoment berechnet. Bei diesem ph mussten 9.25 ccm 0.1-m Ammoniumchlorid auf 100 ccm Pufferlösung genommen werden. Durch eine so grosse Menge sauer reagierenden Salzes wurde der ph-Wert der Lösung um ein geringes herabgesetzt. Es wurde soviel 0.1-mol. NaOH zugesetzt, dass der ph-Wert wieder auf 8 stieg. Mit den anderen Basen wurde ebenso verfahren.

Die Ergebnisse waren wie folgt (die Basen hier, wie auch bei den späteren Aufzeichnungen, nach abnehmender Stärke geordnet):

				Mittel
P_{Ammoniak}	= 2.9	2.8	2.9	2.9
P_{Cevadin}	= 2.7	—	—	2.7
P_{Novocain}	= 8.4	—	—	8.4
P_{Cocain}	= 11.4	—	—	11.4

				Mittel
P_{Brucin}	= 0.60	0.66	—	0.63
$P_{Hydrazin}$	= 0.49	—	—	0.49
$P_{Glucosamin}$	< 0.09	—	—	< 0.09

ph der Aussenlösung = 9.6 (Bestimmung mit Phenolphthalein nach Michaelis). Der ursprüngliche Puffer war der von Ringer, dreifach verdünnt, ph = 10.97. Der ph-Wert sank jedoch bei der Auflösung des zu dem Versuch benutzten Aminsalzes auf 9.6. In dieser Reihe waren die [BOH]-Werte der untersuchten Basen in der Aussenlösung:

Äthylendiamin	$1.6 \cdot 10^{-3}$	Hydrazin	$4.6 \cdot 10^{-3}$
Benzylamin	$3.1 \cdot 10^{-3}$	Glucosamin	$4.6 \cdot 10^{-3}$
Ammoniak	$3.5 \cdot 10^{-3}$		

Die Versuche wurden — anders als die vorigen — in geschlossenen Glasgefässen auf einem unbeweglichen Tische gemacht, Beobachtung alle 3 Minuten. Die Resultate waren wie folgt:

$P_{Äthylendiamin}$	< 0.2	$P_{Hydrazin}$	= 0.36
$P_{Benzylamin}$	= 6.6	$P_{Glucosamin}$	< 0.10
$P_{Ammoniak}$	= 1.8		

ph der Aussenlösung = 10.5 (Bestimmung mit Salicylgelb nach Michaelis).

a. Zur Darstellung eines Puffers von ph = 10.5 in dieser Versuchsreihe wurde Ringer's Puffer verwendet, indem 50 ccm 0.15-mol. Na_2HPO_4 und 5 ccm 0.1-mol. NaOH zusammengemischt und die so erhaltene Lösung zweimal verdünnt wurde. In dieser löste man nun die zu untersuchenden Basen (als Salze) und bestimmte den ph-Wert sowohl am Anfang als auch am Ende des Versuchs. Die $[BOH]_{NH_3}$ der Aussenlösung betrug beim Versuche $4.9 \cdot 10^{-4}$, und die übrigen [BOH]-Werte wurden proportional den Totalmengen der Basen im Zellinnern berechnet (vgl. oben). Es sei darauf hingewiesen, dass das freie Säureäquivalent der benutzten Dichloride und des sauren Hydrazinsulfats vor der Auflösung des Salzes mit der berechneten Menge 0.1-mol. NaOH neutralisiert wurde. Geschah dies nicht, so sank der ph-Wert bei der Auflösung dieser Salze beträchtlich. Die Resultate sind folgende:

				Mittel					Mittel
$P_{Piperidin}$	1.4	1.4		1.4	$P_{Benzylamin}$	5.4	—	—	5.4
$P_{Diäthylamin}$	1.7	3.1		2.4	$P_{Ammoniak}$	3.6	1.4	1.4	
$P_{Cadaverin}$	< 0.2	—		< 0.2		2.4	2.4	3.7	4.3	
$P_{Putrescin}$	< 0.2	—		< 0.2		1.8	3.6	3.4		2.7
$P_{i\text{-}Amylamin}$	1.8	—		1.8	$P_{Cevadin}$	1.5	2.9	—		2.2

			Mittel				Mittel
$P_{Methylamin}$	0.54	—	0.54	$P_{Novocain}$	3.1	9.0 —	6.1
$P_{Trimethylendiamin}$	<0.1	—	<0.1	P_{Cocain}	7.2	— —	7.2
$P_{Äthylendiamin}$	<0.1	—	<0.1	P_{Brucin}	0.84	1.6 —	1.2
$P_{Trimethylamin}$	1.6	—	1.6	$P_{Hydrazin}$	0.66	— —	0.66
$P_{Atropin}$	0.49	—	0.49	$P_{Glucosamin}$	<0.2	—	$-<0.2$

b. In dieser Serie wurde dreifach verdünnter Kolthoff-Puffer verwandt. Dieser Puffer ist carbonathaltig, doch ist, wie sich späterhin zeigt, seine freie Kohlensäuremenge dermassen gering, dass er als kohlensäurefrei gelten kann. Der anfängliche ph-Wert des Puffers war 10.86, er sank jedoch nach der Auflösung der Salze und nach der Verdünnung auf 10.5. Die [BOH] der Basen in der Aussenlösung betrug in dieser Serie $1.9.10^{-3}$. Die Resultate waren:

				Mittel				Mittel
$P_{Diäthylamin}$	3.4	—	—	3.4	$P_{Benzylamin}$	4.6	— —	4.6
$P_{i\text{-}Amylamin}$	3.4	6.6	6.6	5.5	$P_{Ammoniak}$	2.0	4.3 4.3	
$P_{Methylamin}$	2.0	4.0	2.9	3.0		4.0	— —	3.7

c. Hier bildeten die zu untersuchenden Basen, Hydrazin und vier Diamine, selbst den Puffer. Das zweite, freie Säureäquivalent ihrer Salze wurde vermittels 0.1-mol. NaOH neutralisiert, worauf der Hydrazinlösung soviel NaOH-Lösung zugesetzt wurde, dass die Hälfte des Hydrazins in undissoziierter Form war (wobei also das ph der Hydrazinlösung 7.9 betrug). Den Lösungen der Diamine wiederum wurde soviel NaOH zugesetzt, dass ph 10.5 betrug. Die [BOH]-Werte der Basen in der Aussenlösung waren wie folgt:

Cadaverin	$1.5 . 10^{-2}$	Äthylendiamin	$3.2 . 10^{-2}$
Putrescin	$1.6 . 10^{-2}$	Hydrazin	10^{-2}
Trimethylendiamin	$2.0 . 10^{-2}$		

Die Resultate sind:

$P_{Cadaverin}$	0.25	$P_{Äthylendiamin}$	0.040
$P_{Putrescin}$	0.14	$P_{Hydrazin}$	0.44
$P_{Trimethylendiamin}$	0.066		

ph der Aussenlösung = *11.5* (Bestimmung mit Salicylgelb nach Michaelis). Es wurde der im vorigen beschriebene Puffer von Ringer, dessen anfänglicher ph-Wert 11.77 war, nach dreifacher Verdünnung benutzt. Der ph-Wert sank nach der Auflösung der Salze auf 11.5. Bei diesem ph-Wert wurden, da die Versuchszeit bloss kurz sein darf (vgl. später), nur drei rasch permeierende

Basen untersucht. Die [BOH] der Aussenlösung sämtlicher Basen betrug 5.10^{-3}. Die Resultate waren:

					Mittel
$P_{Piperidin}$	1.6	1.6	2.6	1.3	1.7
$P_{Diäthylamin}$	2.6	1.9	3.9	1.6	2.5
$P_{Ammoniak}$	2.7	2.7	4.0	2.7	3.0

Ein Blick auf die mitgeteilten Tabellen zeigt, dass die P-Werte einer bestimmten Base stark schwanken, und zwar in höherem Grade, als der Unsicherheit der kolorimetrischen ph-Schätzung des Zellsaftes zur Last gelegt werden kann (vgl. oben). Und dies ist ja auch begreiflich. Bei den Versuchen schwankten nämlich auch in ein und derselben Pufferserie: Temperatur (von ca. 16° bis ca. 24° C), Belichtung, Tageszeit, Jahreszeit, Alter der Blätter und Wässerungszeit der Schnitte. Die erhaltenen P-Mittelwerte sind infolge der ungleichen Versuchsbedingungen nicht exakt untereinander vergleichbar. Um besser vergleichbare P-Werte zu bekommen, wurde folgender Weg eingeschlagen: Da das Ammoniak in beinahe allen Versuchen eine der geprüften Basen war, wurde zunächst aus sämtlichen Ammoniakversuchen ein Mittelwert für P_{NH_3} berechnet. Das Ergebnis war $P_{NH_3} = 2.8$. Dieser mittlere P-Wert des Ammoniaks wurde nun als Grundlage für die Berechnung der relativen P-Werte der übrigen Basen gewählt, indem die in jedem Versuch erhaltenen ursprünglichen P-Werte der übrigen Basen in bezug auf diesen Wert reduziert wurden, wie folgendes Beispiel zeigt: Man erhielt in einem Versuch $P_{Methylamin} = 0.54$ und $P_{NH_3} = 1.44$. Der relative Wert von $P_{Methylamin}$ ist dann $\frac{2.8}{1.44} \cdot 0.54 = 1.1$.

Tabelle 3.

Base	P		Base	P	
	I	II		I	II
Cocain	9.0	9.3	Methylamin	1.5	1,8
Novocain	5.4	7.2	Atropin	1.0	0.49
Benzylamin	4.2	5.5	Brucin	0.32	0.91
i-Amylamin	3.9	3.7	Hydrazin	0.27	0.46
Ammoniak	2.8	2.8	Cadaverin	0.15	0.25
Diäthylamin	2.5	2.7	Putrescin	0.086	0.14
Trimethylamin	2.5	1.6	Trimethylendiamin	0.041	0.066
Cevadin	2.2	2.5	Äthylendiamin	0.025	0.040
Piperidin	1.6	1.6	Glucosamin	< 0.002	< 0.003

Die Tabelle 3 enhält die aus sämtlichen vorstehenden Versuchen erhaltenen mittleren P-Werte, zuerst (I) die relativen (die also frei von den durch den Wechsel der Versuchsbedingungen verursachten Fehlern sind) und zweitens (II) die bei Benutzung der ursprünglichen Werte der einzelnen Versuche erhaltenen Mittelwerte.

Bei einem Vergleich dieser Werte darf die Übereinstimmung als recht befriedigend bezeichnet werden. Nur vom Trimethylamin bis zum Brucin ist die Reihenfolge der Permeiervermögen der Basen je nach der benutzten Berechnungsweise eine verschiedene.

b. Die Gültigkeit der aufgestellten Arbeitshypothesen.

Wenn man in den obigen Tabellen der einzelnen Versuchsreihen die bei zahlreichen Versuchen benutzten Basen näher betrachtet (in erster Linie wird es sich dabei um das Ammoniak, eventuell auch um das Hydrazin handeln), und wenn man in Betracht zieht, dass sowohl die Totalkonzentration als auch die [BOH] in den verschiedenen Versuchen infolge der verschiedenen Stärke der Basen und infolge der ungleichen ph-Werte stark schwanken, so kann man nicht umhin, zwei Schlussfolgerungen zu ziehen, zu denen die trotz der grossen Versuchsfehler recht befriedigende Konstanz der P-Werte der Basen in den verschiedenen Reihen berechtigen dürfte. (Der am stärksten abweichende Wert für Ammoniak, 1.8, stammt aus einem der allerersten orientierenden Versuche.)

Erstens scheint es, in Übereinstimmung mit der oben dargestellten ersten Arbeitshypothese, sehr wahrscheinlich, dass die Basenionen und OH'-Ionen bei den Versuchen in nur sehr geringem Masse an der Permeation teilgenommen haben, und zwar in so geringem Masse, dass es durch die angewandte Methode nicht zum Vorschein kommt. Dasselbe scheint noch in einem Versuch der Fall zu sein, der mit Ammoniak bei ph = 8 (Sörensen's Phosphatpuffer) und ph = 10.3 (Ringer's Phosphatpuffer, ursprünglich ph = 10.5) gleichzeitig angestellt wurde. In beiden war die [BOH] des Ammoniaks in der Aussenlösung = 5.10^{-4}, Dagegen betrug die Totalmenge bei ph = 8 $9.25.10^{-3}$, bei ph = 10.3 wiederum $5.4.10^{-4}$, war also in ersterer etwa 17 mal grösser. Indessen färbte sich in beiden die erste Zellenreihe in 7', die zweite in 15' bis zur Nuance von ph = 8, ein Beweis dafür, dass beide Lösungen, trotz der grossen Verschiedenheit der Konzentrationen der OH'- und $NH_4^{\cdot}$-Ionen in ihnen, in bezug auf ihr Permeiervermögen gleich effektiv waren. Die einfachste Erklärung des Phänomens wäre daher allem Anschein nach in dem Umstand zu suchen, dass die Ammonium-Ionen oder die OH'-Ionen oder auch beide in so hohem Grade permeationsunfähig sind, dass ein Eindringen derselben in die Zellen vermittels dieser Methode nicht nachgewiesen werden kann. (Die weiter oben gegebene

Erklärung, welche das eventuell sogar recht grosse Permeiervermögen der Ionen nicht in Abrede stellt, könnte möglicherweise auch in diesem Fall Geltung haben; doch scheint sie entschieden weniger wahrscheinlich zu sein.)

Zweitens scheint die annähernde Konstanz der P-Werte der Vorstellung eine Stütze (wenn auch nur in ziemlich unbestimmter Form) zu geben, dass der undissoziierte Teil der Basen insofern dem Fick'schen Diffusionsgesetz folgt, dass die in der Zeiteinheit eingedrungenen Mengen derselben dem treibenden Diffusionsgefälle annähernd proportional sind.

Behufs weiterer Bestätigung hierfür wurden Versuche angestellt, wobei in ein und demselben Versuch bei ein und demselben ph-Wert die Verfärbungsfähigkeit von verschieden konzentrierten Lösungen ein und derselben Base geprüft wurde. Es wurden folgende Versuche ausgeführt:

Ammoniak. ph = 8 (Sörensen's Phosphatpuffer, unverdünnt).

	[BOH] der Aussenlösung	Mittleres Diffusionsgefälle	t
Lösung a.	$5 \cdot 10^{-4}$	$4.9 \cdot 10^{-4}$	0.10 St.
» b.	$2.5 \cdot 10^{-4}$	$2.4 \cdot 10^{-4}$	0.18 »
» c.	$1.25 \cdot 10^{-4}$	$1.15 \cdot 10^{-4}$	0.37 »

Die hieraus berechneten P-Werte ergeben, unter der Voraussetzung, dass die Totalkonzentration an Ammoniak in der Zelle im Beobachtungsmoment $3.4 \cdot 10^{-4}$ ist,

a. 7.2 b. 7.8 c. 7.8.

Demnach ist also die Konstanz der P-Werte recht befriedigend, besonders in Anbetracht des Umstandes, dass in den am stärksten verdünnten Lösungen die Feststellung des Farbenumschlags bedeutend erschwert ist. Doch sind die Werte bei weitem höher als der oben angegebene Mittelwert, was möglicherweise darauf beruhen dürfte, dass die Säureäquivalentmenge des benutzten Blattes kleiner als die der früher benutzten Blätter war.

Hydrazin. ph = 8. (Die Base mit ihrem Salz stellt den Puffer dar.)

	[BOH] der Aussenlösung	Mittleres Diffusionsgefälle	t
Lösung a.	$2 \cdot 10^{-2}$	$1.98 \cdot 10^{-2}$	0.065 St.
» b.	10^{-2}	$9.8 \cdot 10^{-3}$	0.13 »
» c.	$6.7 \cdot 10^{-2}$	$6.5 \cdot 10^{-3}$	0.21 »
» d.	$5 \cdot 10^{-3}$	$4.8 \cdot 10^{-3}$	0.34 »

Bei den am stärksten verdünnten Lösungen macht sich die schon bei dem vorigen Versuch erwähnte Schwierigkeit geltend.

Die Berechnung der P-Werte ergibt:

a. 0.66 b. 0.66 c. 0.54 d. 0.40

Also auch hier kann die Konstanz, in Anbetracht der grossen Fehlerquellen, als ziemlich befriedigend bezeichnet werden. Die Werte sind gleichfalls um einiges höher als die früher angegebenen. Die Ursache dazu dürfte auch in diesem Falle dieselbe wie bei dem vorigen Versuch sein.

Auf Grund der Versuche mit *Rhoeo discolor* wird also allem Anschein nach auch die auf S. 32 erwähnte Arbeitshypothese bestätigt, wonach der Permeationsvorgang den Diffusionsgesetzen gehorcht.

c. Versuche mit kohlensäurehaltigen Lösungen.

Als Pufferlösung wurde die unverdünnte Carbonatmischung von Auerbach und Pick benutzt, deren ph-Wert 9 beträgt und die 0.09-mol. $NaHCO_3$ und 0,005-mol. Na_2CO_3, also zusammen 0.095-mol. Kohlensäure enthält. Die Summe $[H_2CO_3]+[CO_2]$ sei im folgenden »die Konzentration der undissoziierten Kohlensäure» genannt und der Kürze halber mit $[HA]_{CO_2}$ bezeichnet. Ihre Grösse in dieser Lösung kann durch Bestimmung von ϱ und Multiplikation der Gesamtkohlensäuremenge damit berechnet werden. Da $K_{H_2CO_3} = 10^{-6.52}$ und $K_{HCO'_3} = 10^{-10.22}$ ist, so erhält man, wenn ph = 9 ist, $\varrho_{CO_2} = 3.1 \cdot 10^{-3}$ (Michaelis 1922 S. 48).

Die Konzentration der undissoziierten Kohlensäure in obiger Lösung ist dann $3.1 \cdot 10^{-3} \cdot 9.5 \cdot 10^{-2} = 3 \cdot 10^{-4}$. Nimmt man nun an, dass bei den mit diesem Puffer ausgeführten Versuchen im Beobachtungsaugenblick, wo also ph im Zellsaft bis auf ca. 8 gestiegen ist, die Kohlensäure ihr Konzentrationsgleichgewicht nahezu erreicht hat, so muss folglich die $[HA]_{CO_2}$ im Zellinnern ebenfalls annähernd $3 \cdot 10^{-4}$ sein. Jetzt lässt sich die Totalkonzentration der Kohlensäure im Zellinnern mit Hilfe der früher angeführten Michaelis'schen Formel berechnen. ϱ_{CO_2} bei ph = 8 ist $3.2 \cdot 10^{-2}$. Also ergibt sich die Totalmenge aus der Gleichung $3.2 \cdot 10^{-2} \cdot x = 3 \cdot 10^{-4}$, woraus $x = 9.2 \cdot 10^{-3}$.

Die Konzentration des ionisierten Teils beträgt $9.2 \cdot 10^{-3} - 3 \cdot 10^{-4} = 8.9 \cdot 10^{-3}$. Es ist nun klar, dass es im Zellsaft, wenn sein ph-Wert 8 beträgt, einen diesen Carbonatanionen entsprechenden Überschuss an Kationen, $B^{\cdot}$, der permeierten Base gibt, d. h. $[B^{\cdot}]$ im Zellinnern ist um $8.9 \cdot 10^{-3}$ Mol grösser als bei den in carbonatfreiem Puffer unter gleichartigen Bedingungen ausgeführten Versuchen. In letzteren war die sämtlichen Basen gemeinsame $[B^{\cdot}]$ im Zellinnern annähernd $3.2 \cdot 10^{-4}$. Demnach ist, wenn der Versuch unter Benutzung des Carbonatpuffers ausgeführt wurde, $[B^{\cdot}] = 8.9 \cdot 10^{-3} + 3.2 \cdot 10^{-4}$

$= 9.2 \cdot 10^{-3}$. Die Totalkonzentration der Base im Zellinnern kann man jetzt aus der Gleichung $\alpha \cdot x = 9.2 \cdot 10^{-3}$ erhalten. α ist der Dissoziationsgrad und kann vermittels ϱ für die einzelnen Basen berechnet werden. Die [BOH] im Zellinnern ist unter diesen angenommenen Bedingungen selbstverständlich = [Total]—[B·]. Durch eine derartige Berechnung werden die folgenden approximativen Totalkonzentrationen (x) und Konzentrationen der undissoziierten Moleküle (c) im Zellinnern für drei in bezug auf ihre Stärke möglichst verschiedenartige Basen für den Fall erhalten, dass die freie Kohlensäure der unverdünnten Carbonatmischung (ph = 9) von Auerbach und Pick im Beobachtungsmoment bis zum Konzentrationsgleichgewicht eingedrungen ist. (In der Tabelle finden sich auch die Werte der weiter unten ausgeführten Berechnungen.)

Tabelle 4.

Base	Auerbach und Pick ph = 9.0		Kolthoff ph = 9.6		Kolthoff ph = 10.5		Carbonatfrei	
	x	c	x	c	x	c	x	c
Piperidin . .	$9.2 \cdot 10^{-3}$	$6.0 \cdot 10^{-6}$	$6.5 \cdot 10^{-4}$	$4.0 \cdot 10^{-7}$	$3.4 \cdot 10^{-4}$	$2.0 \cdot 10^{-7}$	$3.2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-7}$
Ammoniak .	$9.8 \cdot 10^{-3}$	$5.3 \cdot 10^{-4}$	$6.9 \cdot 10^{-4}$	$3.7 \cdot 10^{-5}$	$3.6 \cdot 10^{-4}$	$2.0 \cdot 10^{-5}$	$3.4 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-5}$
Glucosamin	$23.8 \cdot 10^{-3}$	$4.6 \cdot 10^{-2}$	$16.7 \cdot 10^{-4}$	10^{-3}	$8.8 \cdot 10^{-4}$	$5.4 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$

Es leuchtet ohne weiteres ein, dass bei einer Berechnung der P-Werte auf Grund der mit carbonathaltigen Lösungen ausgeführten Versuche, ohne Beachtung des Umstandes, dass CO_2 die permeierten Totalmengen der Basen und das Diffusionsgefälle verändert hat, die erhaltenen P-Werte — falls die Bedingungen in den carbonatfreien und den carbonathaltigen Versuchen im übrigen die gleichen sind — kleiner als die faktischen Werte sein müssen. Dies beruht nämlich darauf, dass infolge der eingedrungenen Kohlensäure eine grössere Basenmenge im Zellsaft nötig ist, um den Farbenumschlag des Anthocyans zu bewirken, während das mittlere Diffusionsgefälle wiederum kleiner ist als bei den carbonatfreien Versuchen. Je nach der Dauer des Versuchs hat die Kohlensäure in verschieden grossen Mengen in die Zellen permeiert, und infolgedessen ist die [BOH] im Zellinnern in verschiedenem Grade erhöht, das Diffusionsgefälle vermindert worden.

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich nun, dass bei der stärksten Base, Piperidin, der Einfluss der Kohlensäure sich so gut wie ausschliesslich auf die Totalmenge der Base im Zellinnern geltend macht, so dass diese zunimmt. Das mittlere Diffusionsgefälle verringert sich allerdings etwas, doch macht sich dieser Umstand bei Benutzung der in den meisten vorstehenden Versuchen gewöhnlich angewandten Basenkonzentrationen (ca. 10^{-3}) prozentuell nicht

besonders geltend, selbst wenn die Kohlensäure bis zum Konzentrationsgleichgewicht permeiert hätte. Dasselbe gilt auch für die anderen stärkeren Basen bis etwa zum Äthylendiamin. Permeiert also eine dieser Basen im Vergleich zu der Kohlensäure schnell, so wird bei Vernachlässigung der Kohlensäurewirkung aus den Versuchen mit carbonathaltigem Puffer offenbar ein P-Wert für die Base erhalten, der dem tatsächlichen Werte sehr nahe kommen dürfte. Permeiert dagegen die hierhergehörige Base nur langsam, so weicht der für sie in der beschriebenen Weise berechnete P-Wert stark von dem richtigen ab, da die Totalmenge im Zellinnern im Beobachtungsmoment faktisch bedeutend grösser als die bei der Berechnung benutzte war.

Bei den schwächsten Basen — Ammoniak bis Glucosamin — wird die Kohlensäurepermeation, abgesehen von der grösseren Steigerung der Totalkonzentration der Base im Zellinnern, auch noch eine Verminderung des mittleren Diffusionsgefälles zur Folge haben, da die [BOH] im Zellinnern zunimmt, und dies in desto höherem Grade, je schwächer die Base ist (vgl. vorst. Tab.). Handelt es sich um eine hierhergehörige Base, deren Permeiervermögen gross ist, so zieht jetzt — trotz ihrer schnellen Permeation — das Eindringen der Kohlensäure in dem berechneten P-Werte einen grösseren Fehler nach sich, als wenn es sich um eine ebenso schnell permeierende, aber stärkere Base handelt. Und je langsamer eine zu der letztgenannten Gruppe gehörende Base permeiert, um so wahrscheinlicher ist es, dass sie in dem benutzten Puffer gar nicht mehr im stande sein wird, den ph-Wert des Zellsaftes auf 8 zu steigern, da in den meisten Versuchen bei dieser Reaktion die [BOH] der schwächsten Basen, der Tabelle gemäss, im Zellinnern grösser als in der Aussenlösung sein müsste.

Entsprechend können die intrazellularen Totalkonzentrationen und [BOH] berechnet werden, wenn es sich um Kolthoff's Carbonatpuffer, ph = 9.6 und ph = 10.5, handelt (vgl. oben), falls angenommen wird, dass die Kohlensäure bis zum Konzentrationsgleichgewicht eingedrungen sei. Die erhaltenen Werte für Piperidin, Ammoniak und Glucosamin finden sich in der vorstehenden Tabelle, die desgleichen die Grössen aus dem carbonatfreien Versuch enthält.

Es zeigt sich, dass bei ph = 9.6 in diesem Puffer die Permeation der Kohlensäure bei den ausgeführten Versuchen offenbar nur auf die Totalmenge der Base im Zellinnern vergrössernd eingewirkt hat. Eine Herabsetzung des Diffusionsgefälles macht sich allem Anschein nach nur bei den allerschwächsten Basen geltend, und auch hier nur dann, wenn das Konzentrationsgleichgewicht zwischen Aussenlösung und Zellinnern in bezug auf die freie Kohlensäure bereits nahezu erreicht ist. Bei ph = 10.5 dagegen ist — selbst unter der Annahme, dass die Kohlensäure bis zum Konzentrationsgleichgewicht eingedrungen ist — die Veränderung der intrazellularen Totalkonzentration der Basen und des Diffusionsgefälles im Vergleich mit den mit carbonatfreien

Lösungen erhaltenen so gering, dass sie sich unmöglich mit Hilfe der benutzten Methode wahrnehmen lässt. Die unter letzterwähnten Bedingungen angestellten Versuche dürften daher praktisch als kohlensäurefrei gelten, wie schon weiter oben bei der Berechnung der P-Werte bemerkt wurde.

Vergleicht man nun die mit carbonathaltigen Lösungen (Auerbach u. Pick ph = 9) erhaltenen P-Werte, die unter Vernachlässigung der Kohlensäurewirkung berechnet werden, mit den aus den carbonatfreien Versuchen erhaltenen Werten, so müssten, gemäss dem Obengesagten — und wenn die Bedingungen sonst wenigstens einigermassen die gleichen waren — die ersteren in demselben Masse kleiner als die letzteren sein, je schwächer und langsamer die in Frage stehende Base permeiert.

Tabelle 5.

Base	K_{BOH}	P ohne CO_2	P mit CO_2	Base	K_{BOH}	P ohne CO_2	P mit CO_2
Cocain	$10^{-5.59}$	9.0	5.3	Methylamin	$10^{-3.30}$	1.5	1.5
Novocain ...	$10^{-5.15}$	5.4	3.1	Atropin.....	$10^{-4.35}$	1.0	0.36
Benzylamin	$10^{-4.62}$	4.2	2.9	Brucin	$10^{-6.04}$	0.32	< 0.3
i-Amylamin	$10^{-3.3}$	3.9	4.6	Hydrazin ...	$10^{-6.10}$	0.27	< 0.2
Ammoniak..	$10^{-4.76}$	2.8	2.7	Cadaverin ..	$10^{-3.13}$	0.15	< 0.2
Diäthyl-				Putrescin ...	$10^{-3.29}$	0.086	< 0.2
amin	$10^{-2.90}$	2.5	3.4	Trimethy-			
Trimethyl-				lendiamin	$10^{-3.46}$	0.041	< 0.2
amin	$10^{-4.13}$	2.5	2.0	Äthylendia-			
Cevadin.....	$10^{-5.15}$	2.2	1.3	min	$10^{-4.07}$	0.025	< 0.1
Piperidin ...	$10^{-2.80}$	1.6	1.9	Glucosamin	$10^{-6.20}$	< 0.002	< 0.1

Ein Blick auf die Tabelle bestätigt im grossen und ganzen die obigen Annahmen in bezug auf den Einfluss der Kohlensäurepermeation.

Die mit carbonathaltigen Lösungen gewonnenen P-Werte der stärksten, schnell permeierenden Basen sind durchschnittlich nicht kleiner als die mit den carbonatfreien erhaltenen. Die starken, langsam permeierenden Basen sind so permeierunfähig, dass ihre Permeation nicht unter den bei Versuchen mit carbonathaltigen Lösungen obwaltenden Bedingungen zum Vorschein kam, weshalb ein Vergleich ausgeschlossen ist. Dagegen weisen die schwächeren, sowohl schnell wie langsam permeierenden Basen einen bedeutend geringeren berechneten P-Wert in den carbonathaltigen Lösungen auf als in den carbonatfreien.

Immerhin geht aus der Tabelle hervor, dass die P-Werte der mit carbonathaltigen Puffern gemachten Versuche (soweit sich aus ihnen ein bestimmter Wert und nicht bloss ein Grenzwert ergab), unter Vernachlässigung der Kohlensäurewirkung berechnet, bei weitem nicht so klein sind, wie man erwar-

ten dürfte, falls die Kohlensäure bis zum Konzentrationsgleichgewicht eingedrungen wäre, in welchem Fall z. B. der P-Wert des Ammoniaks in den carbonathaltigen Lösungen mindestens 30 mal kleiner als in den carbonatfreien Lösungen sein müsste (vgl. die Totalmengen des Ammoniaks im Zellinnern in den Carbonatversuchen (ph = 9) und in den carbonatfreien Versuchen). Die Versuchsergebnisse deuten also darauf hin, dass die Kohlensäure *zwar teilweise, aber bei weitem nicht bis zum Konzentrationsgleichgewicht* in die Zellen eingedrungen ist. Da jedoch die erhaltenen P-Werte recht ungenau sind, wurden zwecks Aufklärung der Sache einige Spezialversuche vorgenommen.

Hydrazin.

Lösung a. [Total] des Hydrazins in der Aussenlösung = $5.4 \cdot 10^{-3}$. ph = 8.9 (Thymolblau). Die Lösung wurde hergestellt durch Zusatz einer berechneten Menge 0.1-mol. NaOH zur 0.1-mol. Lösung des sauren Hydrazinsulfats und Verdünnen bis zur gewünschten Konzentration. Sämtliche Lösungen wurden unter Benutzung von CO_2-freiem Wasser hergestellt. $[BOH]_{Hydrazin}$ war $4.9 \cdot 10^{-3}$.

Lösung b. Dieselbe Totalkonzentration an Hydrazin wie im vorigen, im unverdünnten Carbonatgemisch (ph = 9.0) von Auerbach und Pick (nach Auflösung des Salzes so viel 0.1-mol. NaOH zugesetzt, dass ph faktisch 9.0 war), Bestimmung mit Thymolblau. Unter diesen Bedingungen ist die $[BOH]_{Hydrazin}$ der Aussenlösung gleich $5 \cdot 10^{-3}$, $[HA]_{CO_2}$ gleich $3 \cdot 10^{-4}$.

In beide Lösungen wurden zu gleicher Zeit aus demselben Blatt entnommene Epidermisplättchen (je 3 Schnitte pro Lösung) eingelegt.

In der Lösung a, welche also vollkommen carbonatfrei ist, ging die Blaufärbung der ersten Zellreihe in 22′, die der zweiten Reihe in 50′ vor sich. Dagegen war in der Lösung b nach Ablauf von 50′ sogar in der ersten Reihe auch noch nicht die geringste Bläuung zu bemerken, offenbar infolge der in die Zellen eingedrungenen Kohlensäure. Sollte die Kohlensäure im Verlauf dieser Zeit bis nahe an das Konzentrationsgleichgewicht permeiert haben, so ist in der Tat selbstverständlich ein Farbenumschlag ausgeschlossen. Müsste doch unter derartigen Bedingungen die [BOH] des Hydrazins im Zellinnern $1.6 \cdot 10^{-2}$ sein, damit ph bis 8 zu steigen vermag, also unter den obwaltenden Versuchsbedingungen, bei denen die $[BOH]_{Hydrazin}$ der Aussenlösung = $5 \cdot 10^{-3}$ ist, eine Unmöglichkeit.

Da in derartigen Versuchen ein Fingerzeig auf eine indirekte Bestimmung des Permeiervermögens der Kohlensäure gegeben zu sein schien, wurden noch folgende Versuche ausgeführt:

Ammoniak.

Lösung a. $[NH_4Cl] = 2.7 \cdot 10^{-3}$. ph anfangs 8.8, zum Schluss 8.7. Mittel also = 8.75 (Thymolblau). Die Lösung wurde hergestellt durch Zusatz der berechneten Menge 0.1-mol. NaOH zu einer 0.1-mol. Ammoniumchloridlösung und Verdünnen bis zur gewünschten Konzentration. Unter diesen Verhältnissen war die $[BOH]_{NH_3}$ der Aussenlösung = $6.6 \cdot 10^{-4}$.

Lösung b. $[NH_4Cl] = 2.7 \cdot 10^{-3}$. NH_4Cl gelöst in der unverdünnten Carbonatmischung von Auerbach und Pick, deren ursprünglicher ph-Wert 9.0 war. ph verblieb während der ganzen Versuchszeit auf 8.8. Unter diesen Verhältnissen war $[BOH]_{NH_3} = 7.3 \cdot 10^{-4}$ und $[HA]_{CO_2} = 4.8 \cdot 10^{-4}$.

Gleichzeitige Versuche mit gleichartigen Epidermisstückchen ergaben, dass die Blaufärbung der ersten Reihe in der Lösung a 11.5′, in der Lösung b wiederum 13′ in Anspruch nahm.

Auf Grund des in der Lösung a ausgeführten Versuches kann nun unter diesen Verhältnissen in gewohnter Weise P_{NH_3} berechnet werden, da Zeit, Totalkonzentration der Base im Zellinnern und mittleres Diffusionsgefälle bekannt sind. Man erhält $P_{NH_3} = 3.12$.

In dem in Lösung b ausgeführten Versuch ist die Totalkonzentration des Ammoniaks im Zellinnern nicht bekannt, da die während der Versuchszeit in die Zelle eingedrungene, die Totalkonzentration steigernde Kohlensäurekonzentration unbekannt ist. Nun kann diese Totalkonzentration des Ammoniaks im Zellinnern berechnet werden unter der Annahme, dass das Ammoniak in dem in Lösung b ausgeführten Versuch den gleichen P-Wert hat wie in dem in Lösung a ausgeführten Versuche, also 3.12. Und diese Annahme erscheint durchaus berechtigt, da die Versuche in beiden Lösungen gleichzeitig ausgeführt und die Bedingungen in beiden möglichst gleichartig waren. (In Lösung b waren allerdings freie Kohlensäure und auch Pufferionen vorhanden, welche eventuell die Permeabilität der Zellen im Vergleich zu der von Lösung a um einiges veränderten.) — Es sind also in bezug auf Lösung b sämtliche Grössen der approximativen Permeationsgleichung vorhanden ausser der in die Zelle eingedrungenen Totalmenge des Ammoniaks, die berechnet werden kann. (Das Diffusionsgefälle ist allerdings infolge der CO_2-Permeation, nach dem im vorigen Gesagten, um eine Spur verringert, doch ist die dadurch bewirkte Veränderung allem Anschein nach so unbedeutend, dass sie ignoriert werden kann.) Das Resultat ist $4.9 \cdot 10^{-4}$. In der carbonatfreien Lösung dagegen beträgt, nach Vorstehendem, die Totalkonzentration des Ammoniaks im Zellinnern im Untersuchungsmoment ca. $3.4 \cdot 10^{-4}$. Also ist in dem ausgeführten Carbonatversuch diese Totalmenge um $(4.9—3.4) \cdot 10^{-4} = 1.5 \cdot 10^{-4}$ grösser als in dem carbonatfreien Versuch. Diese Zunahme beruht offenbar auf einem Verbrauch von Ammoniak zum Neutralisieren der eingedrungenen Kohlensäure. Es versteht sich von selbst, dass diese Zunahme, $1.5 \cdot 10^{-4}$, zum Teil in der Form $NH_4^{\cdot}$, zum Teil in undissoziierter Form auftritt. Bei einer Berechnung mit Hilfe des in Tab. 1 erwähnten ϱ_{NH_3ph8} erhält man als Konzentration der ersteren $1.4 \cdot 10^{-4}$, als die der letzteren $7.9 \cdot 10.^{-6}$. Nun gibt es im Beobachtungsmoment in der Zelle offenbar eine $[NH_4^{\cdot}]$ entsprechende Ionenmenge der Kohlensäure, $[A']_{CO_2}$, deren Konzentration also gleichfalls $1.4 \cdot 10^{-4}$ ist. Im vorigen wurde ϱ_{CO_2ph8} zu $3.2 \cdot 10^{-2}$ berechnet. Da nun $\alpha = 1 - \varrho$ und $\alpha \cdot [\text{Total}]_{\text{Kohlensäure}} = 1.4 \cdot 10^{-4}$ ist, so erhält man durch Lösung dieser Gleichung die Totalkonzentration der Kohlensäure im Beobachtungsmoment $= 1.4 \cdot 10^{-4}$. $[HA]_{CO_2}$ ist also im Beobachtungsmoment $= (1.4—1.4) \cdot 10^{-4} =$ prakt. 0 (wenn man die Berechnungen mit zwei Dezimalen ausführt, erhält man 5.10^{-6}). Somit wären nun sämtliche zur Berechnung der Permeationskonstante des Kohlendioxyds erforderliche Grössen gefunden. Der Übersichtlichkeit halber werden sie hier zusammengestellt:

C	c	$\frac{C + (C—c)}{2}$	x	t
$4.8 \cdot 10^{-4}$	prakt. 0 ($5 \cdot 10^{-6}$)	$4.8 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-4}$	0.21 Stunden

$$\text{Also } P_{CO_2} = \frac{1.4 \cdot 10^{-4}}{0.21} \cdot \frac{1}{4.8 \cdot 10^{-4}} = 1.4.$$

Das Resultat scheint darauf hinzuweisen, dass die Permeationskonstante des Kohlendioxyds von derselben Grössenordnung wie die des Ammoniaks, eventuell um ein Weniges kleiner ist. Zur weiteren Bestätigung des Ergebnisses wurden dann noch zwei weitere Versuche mit NH_3 und CO_2 ausgeführt unter Variierung der Versuchsbedingungen.

Wir stellen die in diesen drei Versuchen erhaltenen Werte von P_{NH_3} und P_{CO_2} zusammen:

P_{NH_3}	3.1	4.4	5.8	Mittel	4.4
P_{CO_2}	1.4	1.8	4.3	»	2.5

Hält man sich auch weiterhin an den im vorigen benutzten durchschnittlichen P-Wert des Ammoninks, 2.8, und reduziert man den erhaltenen P_{CO_2}-Wert in bezug auf diesen Wert, so erhält man $P_{CO_2} = 1.8$.

Dieser in oben beschriebener Weise erhaltene Wert ist selbstverständlich sehr wenig genau. Die beobachteten geringen Differenzen in bezug auf die Permeationszeiten in den carbonatfreien und den carbonathaltigen Lösungen liegen nämlich in bedenklicher Nähe der Fehlergrenzen. Zudem sind die benutzten Lösungen ausserordentlich verdünnt, so dass die beim Atmungsprozess der Zellen entwickelte Kohlensäure, deren Menge völlig unbekannt ist, hierbei sehr wohl ein störender Faktor sein kann. Der hier oben beschriebene Gedankengang dürfte jedoch vielleicht mit besserem Erfolg bei anderen, passenderen Objekten, bei denen die Reaktion des Zellsaftes sich genauer bestimmen lässt, Anwendung finden (z. B. Characeen, *Valonia*). *Immerhin dürfte der oben bestimmte Wert für P_{CO_2} zeigen, dass das Permeiervermögen des Kohlendioxyds von derselben Grössenordnung wie das des Ammoniaks ist, und es dürfte auf Grund desselben auch noch die Vermutung ausgesprochen werden können, dass ersteres um ein Geringes kleiner ist als letzteres.* Bestimmtere Aussagen erlaubt die Ungenauigkeit der angewandten Methode kaum.

c. *Der Lebenszustand der Epidermiszellen während der Versuche.*

Bisher ist die im Zusammenhang mit den vorhin aufgestellten allgemeinen Grundsätzen erwähnte unerlässliche Forderung mit Stillschweigen übergangen worden, dass man sich im allgemeinen, und besonders beim Ausführen von Versuchen in Säuren- oder Basenlösungen, sowohl über den Lebenszustand der zu prüfenden Zellen zur Zeit der Permeationsversuche wie über ihre eventuellen Permeabilitätsveränderungen ganz klar sein muss. In Anbetracht seiner Wichtigkeit verdient dieser Punkt besondere Berücksichtigung.

Bei den ausgeführten Versuchen ist die lebende Epidermiszelle von *Rhoeo discolor* von zwei Gifteinflüssen bedroht, erstens vom Einfluss des alkalisch reagierenden Puffers, zweitens vom Einfluss der zu untersuchenden schwachen Base.

Die nächstliegende Aufgabe war, in jeder Versuchsserie die Widerstandsfähigkeit der Epidermiszellen gegenüber dem Puffer zu prüfen. Die Unbeschädigtheit der Zellen gegenüber dem Einfluss des eine bestimmte Zeit lang einwirkenden Puffers ersah man erstens daraus, dass die (bei elektrischem Licht) rotviolette Farbe des Anthocyans sich unverändert erhielt (Vergleich mit einem ebenso lange in Leitungswasser gelhaltenen, mit normaler Farbennuance ausgestatteten Schnitt). Zweitens wurden die Zellen mit KNO_3 plasmolysiert. War die Plasmolyse normal (verglichen mit der Plasmolyse der in Leitungswasser gewesenen Zellen), so wurde der Lebenszustand der Zellen als normal angesehen. Die auf die Plasmolyse folgende Deplasmolyse, welche BRENNER (1918) anwandte, wurde neben diesen Kriterien nicht mehr als nötig erachtet, zumal da schon der Plasmolysevorgang selbst wegen seiner Gewaltsamkeit die Zellen etwas beschädigen kann. Unter Anwendung der erwähnten Kriterien wurde festgestellt, dass die Zellen unbeschädigt blieben: in Sörensen's Puffer ph = 8, unverdünnt, mindestens 12 Stunden; im Carbonatgemisch von Auerbach und Pick ph = 9, unverdünnt, mindestens 4 Stunden; in Ringer's Puffer ph = 10.5, zweimal verdünnt, etwa 2 Stunden; in Ringer's Puffer ph = 11.5, dreimal verdünnt, etwa $^1/_2$ Stunde. In anderen Puffern, mit denen eine geringere Zahl von Versuchen ausgeführt wurden, war die Widerstandsfähigkeit der Zellen bei entsprechenden ph-Werten ungefähr dieselbe. Bei den eigentlichen Permeabilitätsversuchen wurden Schnitte, ausser in mit den zu untersuchenden Stickstoffbasen versetzten Pufferlösungen, gleichzeitig auch immer in reinem Puffer gehalten, um die Widerstandsfähigkeit der Zellen gegenüber letzterem während des betreffenden Versuchs zu ermitteln (die Unveränderlichkeit der Farbennuance des Anthocyans und die Plasmolyse als Kriterien).

Die zweite Aufgabe war, nach Abschluss der eigentlichen mit verschiedenen Basen ausgeführten Versuche über den Gesundheitszustand der blaugewordenen Zellenreihen Gewissheit zu erlangen, in denen der ph-Wert des Zellsafts auf 8 gestiegen war.

Wenn die Versuche gerade so lange dauerten, dass die zwei ersten Reihen sich blau färbten, waren in der ersten, stärker alkalisch gewordenen Zellenreihe unbedeutende Anzeichen einer Beschädigung bemerkbar, während die zweite, schon deutlich, wenn auch weniger blau gefärbte Reihe, deren ph also ungefähr 8 war, beinahe vollkommen lebend ist. Das Kriterium war anfangs die Plasmolyse mit KNO_3, später — als die Vermutung entstand, dass der Plasmolysevorgang an sich durch seine Gewaltsamkeit die Zellen irgendwie beschädigen kann — wurde als Kriterium zweistündiges Halten in Leitungswasser nach dem Versuch angewandt, wobei die ursprüngliche rotviolette Nuance in die Zellen zurückkehrte, und danach Überführung in ein Carbonatgemisch (ph = 9), in welchem sich die Nuance erhalten muss, wenn die Zellen lebend sind.

Dauert der Einfluss der Base so lange, dass mehrere Zellenreihen sich blau färben, so ist ausser der ersten Zellenreihe die zweite, vielleicht auch die dritte, teilweise beschädigt, und zwar um so mehr, je höher der ph-Wert des Zellsaftes in ihnen gestiegen ist.

Obigem zufolge waren also die Zellen vom Versuchsbeginn bis zu dem Augenblick, wo der ph-Wert des Zellsaftes auf 8 gestiegen war, sichtlich lebend. Diese Feststellung entspricht jedoch noch nicht vollauf der vorhin aufgestellten Forderung, wonach auch Richtung und Umfang einer eventuellen reversiblen Veränderung der Permeabilitätseigenschaften der sich lebend erhaltenden Zelle bekannt sein müssen.

Zur Klärung der Sachlage wurde die Permeabilität der mit Ammoniak blau gefärbten Epidermiszellen gegenüber Harnstoff mit der Permeabilität von Zellen mit normaler Farbennuance gegenüber demselben Stoff verglichen. Harnstoff wurde deshalb gewählt, weil er langsam permeierend und kleinmolekular ist. Wenn die Permeabilität der Zellen sich verändert hat (wahrscheinlich dann vergrössert), so tritt nämlich diese Veränderung (Vergrösserung) aller Wahrscheinlichkeit nach in erster Linie kleinen Molekülen gegenüber zu Tage (vgl. z. B. Overton 1907). Die Untersuchung wurde unter Anwendung der Methode der Partialdrucke (vgl. Bärlund 1929) auf folgende Weise ausgeführt:

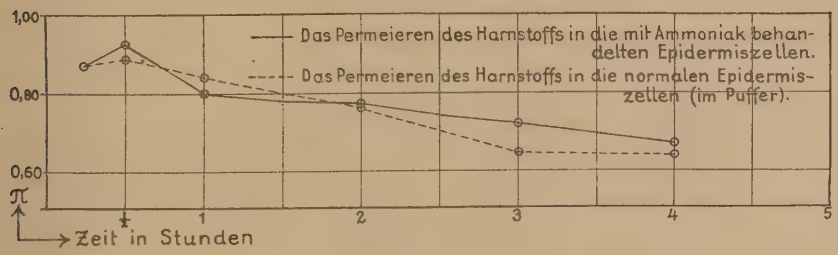
Rhoeo-Schnitte wurden 2 Stunden lang im Phosphatpuffer von Sörensen ph = 7 (2 mal verd.), dem so viel NH_4Cl hinzugefügt war, dass $[BOH]_{NH_3} = 5 \cdot 10^{-5}$ war, geschüttelt. (Die zur Blaufärbung der Zellen nötige Minimalkonzentration von Ammoniak beträgt ungefähr $2 \cdot 10^{-5}$.) Zu gleicher Zeit wurde der andere Teil der Schnitte 2 Stunden in demselben Puffer geschüttelt, der an Stelle von NH_4Cl, NaCl in entschprechender Konzentration enthielt. Am besten verfährt man so, dass das Schütteln in zwei, mehrere Flaschen umfassenden Serien (Serie A und B) vor sich geht, wobei man in die erste Flasche der Serie A einen der von der Blattbasis gewonnenen 4 Schnitte legt, in die erste der Serie B ebenfalls einen derselben Schnitte (es bleiben also von diesen vier im Leitungswasser noch 2 Schnitte übrig), in die zweite Flasche der Serie A einen der folgenden 4 Schnitte, in die zweite der Serie B gleichfalls einen dieser 4 Schnitte (es bleiben wiederum zwei von diesen im Leitungswasser übrig), usw. Nach 2 Stunden (oder auch schon früher) haben sich die Schnitte der Serie A in ihrer Gesamtheit schwach, aber trotzdem ganz deutlich blau gefärbt (ph in den Zellen also ungefähr 8 oder etwas darüber), NH_3 ist annähernd bis zum Konzentrationsgleichgewicht mit der Aussenlösung in die Zelle eingedrungen, die Schnitte der Serie B dagegen zeigen schön die ursprüngliche rotviolette Nuance.

Nun wurden die Schnitte unter Aufrechterhaltung ihrer Reihenfolge aus den Flaschen der Serie A in eine Lösungsserie überführt, die aus um 0.01 GM abgestuften Lösungen von Rohrzucker, in dem obenerwähnten, mit NH_4Cl versetzten Puffer gelöst, bestand. Die Schnitte der Serie B wiederum in eine gleiche Zuckerserie, deren Lösungsmittel der mit NaCl versetzte Puffer war. Nach 2 Stunden wurde auf die übliche Weise die plasmolytische Grenzkonzentration der Schnitte bestimmt.

Schon vorher waren die (im Leitungswasser) übriggebliebenen Schnitte in den obenerwähnten Flaschenserien A und B (unter Beibehaltung ihrer Reihenfolge) geschüttelt worden. Nach 2 Stunden war die Nuance der Zellen die gleiche wie bei den vorigen Schnitten. Hierauf wurden die Schnitte (der Reihe nach) aus der Flaschenserie A in eine Lösungsserie gelegt, die um 0.01 GM abgestufte Harnstoffkonzentrationen im Puffer ph = 7 (2 mal verd.) + NH_4Cl enthielt, und ebenso aus der Flaschenserie B in die gleiche Harnstoffserie, deren Lösungsmittel Puffer ph = 7 (2 mal verd.) + NaCl war. Mittels dieser 2 Serien wurde auf die übliche Art die Fähigkeit des Harnstoffs, einerseits in die blaugewordenen, andrerseits in die mit der ursprünglichen Nuance versehenen Epidermiszellen zu permeieren, festgestellt.

Schon ein orientierender Versuch erwies, dass die Permeabilität der blaugewordenen Zellen gegenüber Harnstoff kaum von der Permeabilität der mit normaler Farbennuance ausgestatteten abwich.

Die Permeation des Harnstoffs in beide Zellarten im Hauptversuch ist aus folgender graphischer Darstellung ersichtlich, in der π den temporären plasmolytischen Koeffizienten (vgl. BÄRLUND l. c.) bedeutet.



Figur 3.

Das Ergebnis scheint ganz hinreichend zu erweisen, dass die auf ungefähr ph = 8 von Ammoniak blaugefärbten Zellen ziemlich die gleiche Permeabilität wie die mit normaler Nuance gegenüber Harnstoff aufweisen.

Die Kurven geben ferner zu erkennen, dass die Ionen des Puffers in der angewandten Konzentration wohl kaum bemerkenswerte Veränderungen in den Permeabilitätsverhältnissen der Epidermiszellen bewirken, da ja der maximale π-Wert bei diesen Versuchen ziemlich der gleiche (durchschnittlich ca. 0.91)ist wie Bärlunds (l. c.) entsprechender Wert in Leitungswasser (0.885).

Aus diesem Versuch kann man wohl den Schluss ziehen, dass die Steigerung des ph-Wertes des Zellsafts auf 8 *an und für sich* die Permeabilitätseigenschaften der Zellen nicht merklich verändert.

Dies ist jedoch noch kein genügender Beweis dafür, dass bei Versuchen mit *allen* verschiedenen untersuchten Basen die Permeabilität der Zellen unverändert bleibt. In der Giftwirkung der Basen lassen sich nämlich offenbar zwei

Seiten unterscheiden: zunächst beruht ihre Giftigkeit auf ihrer Fähigkeit, den ph-Wert im Zellinnern zu steigern (welche Wirkung also, nach dem Vorhergehenden, in kurzdauernden Versuchen zu vernachlässigen ist, wenn ph nicht nennenswert über 8 steigt), zweitens können die Basenmoleküle oder Basenkationen selbst spezifische Giftwirkungen entfalten. Eine solche spezifische Wirkung scheint, nach dem Obigen, Ammoniak (und wahrscheinlich auch die untersuchten eigentlichen Amine) in den angewandten Konzentrationen kaum zu besitzen, wohl aber sehr wahrscheinlich die Alkaloide. In den ausgeführten Versuchen beweist dies z. B. der Umstand, dass Cevadin und Brucin, besonders ersteres, ungeachtet ihrer Schwäche, in der ersten Zellenreihe — teilweise sogar auch in der zweiten — irreversible Krankheitserscheinungen erzeugten, obgleich der Versuch nur gerade so weit ausgedehnt wurde, dass die zwei ersten Zellenreihen Zeit hatten, sich blau zu färben. Atropin rief dagegen trotz seiner grösseren Dissoziationskonstanten in geringerem Masse irreversible Krankheitserscheinungen hervor, Cocain und Novocain überhaupt kaum welche. (Zu der relativen Unschädlichkeit der zwei letzteren dürfte teilweise auch der Umstand beitragen, dass infolge ihres besonders grossen Permeiervermögens die Versuche mit ihnen verhältnismässig schnell verliefen.) Jedenfalls war auch nach den mit den giftigsten Alkaloiden ausgeführten Versuchen stets ein beträchtlicher Teil blaugefärbter Zellen vorhanden, in denen keine irreversible Permeabilitätsveränderung zu bemerken war.

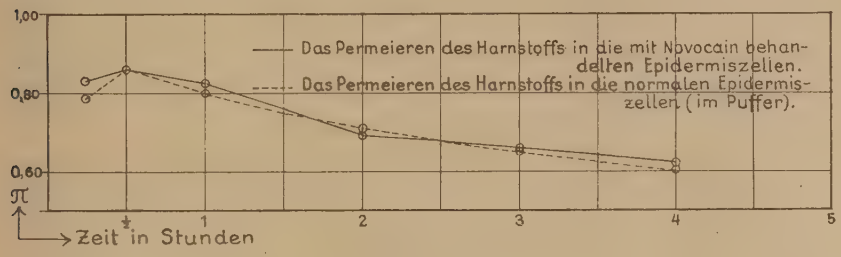
Um nun Klarheit darüber zu erlangen, ob das mit den Alkaloiden verwandte Novocain nicht einmal reversible Permeabilitätsveränderungen erzeugt hatte, wurde auf die obige, im Zusammenhang mit dem Ammoniakexperiment geschilderte Weise die Permeabilität der mit Novocain behandelten Epidermiszellen im Vergleich zur Permeabilität von normalen Zellen gegenüber dem Harnstoff untersucht.

Die Wahl von Novocain erfolgte zunächst deshalb, weil es rasch permeiert und infolgedessen in verhältnismässig kurzer Zeit annähernd das Konzentrationsgleichgewicht erreicht, und zweitens, weil es sich in der Lösung nicht zersetzt, wie z. B. Cocain (vgl. w. u.), das sich sonst ebenso gut für den Versuch eignen würde.

Die theoretisch berechnete, zur Blaufärbung der Zellen erforderliche Minimalkonzentration an freier Novocainbase beträgt ungefähr $5 \cdot 10^{-5}$. Nichtsdestoweniger waren die Zellen nach zweistündigem Schütteln in einer Pufferlösung von ph = 7 (2 mal verd.), dem so viel Novocainhydrochlorid zugesetzt war, dass $[BOH]_{Novocain}$ $1.25 \cdot 10^{-4}$ betrug, immer noch kaum merkbar blau geworden, ph im Zellsaft also leider offenbar nicht ganz 8. Die Ursache lag vermutlich darin, dass die zu diesem Versuch benutzten Epidermiszellen, deren Farbe ungewöhnlich hellrotviolett war, eine grössere Säureäquivalentmenge als bei dem vorigen Ammoniakversuch und überhaupt bei früheren

Versuchen enthielten. Ausserdem wurde dieser Versuch im Sommer, die übrigen im Winter ausgeführt. Jedenfalls entspricht der Versuch offensichtlich vollkommen seinem Zweck: er beweist nämlich, welchen Einfluss das Eindringen der Novocainmoleküle durch das Plasma sowie die Gegenwart von Novocainionen zu beiden Seiten des Plasmas auf die Permeabilitätseigenschaften der Zelle haben, — der Einfluss der ph-Steigerung wurde ja bereits vorher eliminiert.

Von dem Permeieren des Harnstoffs in normale und in mit Novocain behandelte Zellen gewährt folgende graphische Darstellung eine Auffassung:



Figur 4.

Das Ergebnis zeigt, dass die Novocainbehandlung die Zellpermeabilität gegenüber Harnstoff nicht merkbar veränderte, und bestätigt die oben im Zusammenhang mit dem Ammoniakversuch aufgestellte Behauptung, dass aller Wahrscheinlichkeit nach auch der Puffer in der angewandten Konzentration keine sichtlichen Veränderungen in der Zellpermeabilität bewirkt.

Das Vollkommenste wäre natürlich, wenn man denselben Versuch mit allen untersuchten Alkaloiden und Aminen machen könnte, aber dem stellen die bereits geschilderten Gründe ein Hindernis entgegen: bei den einen die langsame Permeation, bei den anderen die Zersetzung in der Lösung — welche Zersetzung während eines längeren Versuchs sicher störend wirkt — sowie die begrenzte Zeit (derartige Versuche sind sehr zeitraubend, besonders in ihrer oben beschriebenen Form).

Der Verfasser hat sich daher begnügt, das Ergebnis des Ammoniakversuchs für die Amine, das Ergebnis des Novocainversuchs für Alkaloide zu verallgemeinern. Die Schlussfolgerung lautet:

Beim Permeieren der untersuchten Amine und Alkaloide in die Epidermiszellen der Blattunterseite von *Rhoeo discolor* in dem Masse, dass das ph des Zellsafts nicht merklich 8 übersteigt, ist es wahrscheinlich, dass weder die Erhöhung des ph-Wertes noch die Moleküle und Ionen der Basen solche Giftwirkungen auf die betreffenden Zellen haben, dass in den Permeabilitätseigenschaften der letzteren eine besonders merkbare Veränderung einträte.

3. Experimente mit Tradescantia virginica.

A. Allgemeine Grundlagen der Methode.

Die Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* sind perlbandförmige Zellenreihen, deren vollentwickelte Zellen mit einer undurchlässigen Cuticula überzogen sind und in ihrer grossen Vakuole einen bei Tageslicht blau-, bei elektrischem Licht rotvioletten Zellsaft enthalten. Wenn ein solches Haar in die Lösung einer schwachen Base gebracht wird, dringt diese infolge der Undurchlässigkeit der Cuticula in das Haar nur von dessen Schnittfläche herein, wobei das Anthocyan des Zellsaftes zuerst in der ersten Zelle von der Schnittfläche aus, dann in der zweiten, dritten usw. blau wird. Die Erscheinung ist also vollkommen analog der bei *Rhoeo discolor* beobachteten. Nur entsprechen den Zellenreihen der letzteren jetzt die einzelnen Zellen.

Durch eine Bestimmung der Farbenwechselskala des Anthocyans ähnlich der, wie sie weiter oben in Verbindung mit den *Rhoeo*-Versuchen geschildert wurde, konnte man feststellen, dass bereits bei ph = 7 im Innern der Zelle eine schwache Farbenveränderung bemerkbar war, die bei ph = 8 bereits ziemlich deutlich hervortrat. Die Farbenskala zeigt weiter, dass die Nuance bei ph = 2 braunrötlich ist und sich bei der Erhöhung des ph-Wertes allmählich in Rosenrot, Rotviolett, Violett, Blau, Blaugrün, Grün und schliesslich bei ph = 12 in Grüngelb verwandelt. Die natürliche Nuance der Zelle entspricht ungefähr ph = 4—6. Eben in diesem ph-Gebiet ist die Veränderung der Farbe sehr gering. Verfolgt man jetzt die Zeit, welche ungefähr bis zum Auftreten der Nuance von ph = 8 in der ersten Zelle unter dem Einfluss der verschiedenen Basen verläuft, so kann man sich einen Begriff von dem relativen Permeiervermögen der Basen in die Haarzellen machen.

Um die zum Berechnen der P-Werte unerlässlichen intrazellularen [BOH] und Totalmengen der Basen zu erhalten, wurde nun auch auf die bei *Rhoeo* geschilderte Weise die Minimalkonzentration der Aussenlösung an freiem Ammoniak bestimmt, welche eben noch den ph-Wert des Zellsaftes auf ungefähr 8 zu erhöhen vermag. Als Ergebnis wurde $5 \cdot 10^{-5}$ gefunden, welches zu beweisen scheint, dass der Zellsaft der Staubfadenhaare mehr Säure enthält als die Epidermiszellen von *Rhoeo*. In der bei den *Rhoeo*-Versuchen angegebenen Weise wurden dann [BOH] und die Totalkonzentration der verschiedenen Basen im Zellinnern im Untersuchungsaugenblick, d. h. wenn ph = 8 im Zellsaft ist, berechnet.

Man erhielt:

Base	[BOH]	[Total]
Piperidin	$6 \cdot 10^{-7}$	$8.7 \cdot 10^{-4}$
Diäthylamin	$7 \cdot 10^{-7}$	$8.7 \cdot 10^{-4}$
Cadaverin	10^{-6}	$8.7 \cdot 10^{-4}$
Putrescin	$2 \cdot 10^{-6}$	$8.7 \cdot 10^{-4}$
i-Amylamin	$2 \cdot 10^{-6}$	$8.7 \cdot 10^{-4}$
Methylamin	$2 \cdot 10^{-6}$	$8.7 \cdot 10^{-4}$
Trimethylendiamin	$3 \cdot 10^{-6}$	$8.8 \cdot 10^{-4}$
Äthylendiamin	10^{-5}	$8.8 \cdot 10^{-4}$
Trimethylamin	10^{-5}	$8.8 \cdot 10^{-4}$
Atropin	$2\ 10^{-5}$	$8.9 \cdot 10^{-4}$
Benzylamin	$4.6 \cdot 10^{-5}$	$9.2 \cdot 10^{-4}$
Ammoniak	$5{,}0 \cdot 10^{-5}$	$9.2 \cdot 10^{-4}$
Novocain	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$9.9 \cdot 10^{-4}$
Cevadin	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$9.9 \cdot 10^{-4}$
Cocain	$3.4 \cdot 10^{-4}$	$1.21 \cdot 10^{-3}$
Brucin	$9.6 \cdot 10^{-4}$	$1.83 \cdot 10^{-3}$
Hydrazin	$1.1 \cdot 10^{-3}$	$1.97 \cdot 10^{-3}$
Glucosamin	$1.4 \cdot 10^{-3}$	$2.27 \cdot 10^{-3}$

Als Kriterium des Lebens wurde die Plasmaströmung in den Haarzellen gewählt. In allen Zellen der untersuchten Haare war dieselbe anfangs stets recht lebhaft. Als der ph-Wert im Zellsaft etwa auf 7 stieg, verlangsamte sie sich vielleicht ein wenig, bei ungefähr ph = 8 war sie bereits träge, bei ph = ungefähr 9 und weiter aufwärts hörte sie ganz auf. Als aber die Haare nach dem Versuch in reines Leitungswasser getan wurden, kehrte die ursprüngliche Nuance des Anthocyans wieder zurück — die Base diffundierte offenbar heraus —, und die Plasmaströmung setzte von neuem lebhaft ein. Nur in den Zellen, in welchen ph über 9 gestiegen war (bisweilen schon ungefähr bei ph = 9) kam eine solche Rückkehr der Nuance nicht vor, sondern nachdem das Haar eine Zeit lang im Wasser gewesen war, entleerten sich solche Zellen gänzlich von dem Anthocyan, ein Beweis, dass die Veränderung der Permeabilitätseigenschaften bis zum Grade der Irreversibilität, also bis zum Absterben weiterging. Das Eindringen der Basen in die Zelle in dem Grade, dass der ph-Wert des Zellsaftes auf 8 steigt, scheint demnach, im Lichte der obigen Ausführungen, vor sich gegangen zu sein, solange die Zellen sicher noch lebend waren.

Dagegen konnte nicht ganz sicher entschieden werden, in welchem Masse die Permeabilitätsverhältnisse der Zellen sich während dieses Vorganges eventuell reversibel verändern. Da jedoch die Plasmaströmung, wenn auch verlangsamt, meistens bei ph = 8 des Zellsaftes anhält, ist es wohl wahrscheinlich, dass tiefgreifende Veränderungen der Permeabilitätseigenschaften nicht eingetreten sind, zumal wenn man in Betracht zieht, dass das angewandte Kriterium des Lebenszustandes äusserst empfindlich ist.

Die Versuchsserien mit *Tradescantia virginica* sind orientierender Natur und sowohl hinsichtlich ihrer Basenauswahl wie ihrer Ergebnisse unvollständiger als die Versuche mit *Rhoeo*. Ausserdem wurden sie ausgeführt, bevor die allgemeinen theoretischen Grundlagen der Methode vollkommen geklärt waren. Sie bezwecken deswegen auch nur eine ergänzende Bestätigung für die aus den *Rhoeo*-Versuchen gewonnenen Hauptergebnisse.

B. Ausführung der Versuche, Ergebnisse und Vergleich mit Rhoeo.

Für den Versuch wurde stets eine sich eben öffnende Blüte gewählt, deren Staubfadenhaarbüschel möglichst rotviolett waren. Die Staubfadenhaare einer vollkommen geöffneten, älteren Blüte kann man unmöglich anwenden, da die Wände zwischen den einzelnen Zellen so verdickt sind, dass der permeierende Stoff äusserst langsam von einer Zelle in die andere gelangt. Unerschlossene Knospen wiederum sind deshalb ungeeignet, weil infolge der Unentwickeltheit ihrer Cuticula die Permeation von allen Seiten her in die Haarzellen vor sich geht und die Methode daher nicht in der angegebenen Form befolgt werden kann.

Die Krone der gewählten Blüte wurde entfernt, zwischen den Haaren zurückgebliebene störende Luft mittels einer Vakuumpumpe entfernt (die Blüte unter Wasser) und hierauf ein Staubfaden mit seinen Haaren ausgezupft. Dann wurde der Staubfaden mit einem Rasiermesser zwischen Hollundermark an seiner Basis abgeschnitten, so dass die Haare sich mit ablösten. Letztere wurden in eine kleine Glasschale in ein wenig Leitungswasser gelegt. Hiervon wurden mit einem Glasröhrchen einige Tropfen mit Haaren herausgesaugt und in die jeweilige Lösung getröpfelt, die sich während der Versuche in mit Deckeln versehenen Glasschalen (ohne Schütteln) befand. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden je 5 möglichst gleich grosse und gleich aussehende Haare vorsichtig und rasch mit einer Nadel aus der Lösung herausgefischt und zur Beobachtung auf einem Objektglas unter das Mikroskop gelegt. Man muss sich hierbei hüten, die Haare irgendwie zu drücken, weil sie dadurch leicht beschädigt werden können. Um das Fortschreiten der Blaufärbung deutlicher zu sehen, ist es, besonders bei schwachen, rasch permeierenden Basen, gut, daneben zum Vergleich ein möglichst gleichartiges Haar mit normaler Farbennuance zu haben.

Die Basen waren bei allen Versuchen mit *Tradescantia virginica* in 3 mal verdünntem Kolthoff'schen Carbonatpuffer gelöst, dessen ursprüngliches ph = 10.86 war. Nach erfolgter Verdünnung und Auflösung von Aminsalz ging jedoch der ph-Wert auf 10.5 herunter. (Bestimmung mit Salicylgelb nach Michaelis.) In einer Versuchsreihe war die [BOH] sämtlicher Basen in der Aussenlösung gleich $1.9 \cdot 10^{-3}$, in einer zweiten Reihe wiederum gleich $2.5 \cdot 10^{-4}$. (In der

letzteren Versuchsreihe war jedoch die [BOH] der drei schwächsten Basen $= 1.1 \cdot 10^{-3}$.) Die Konzentration der freien Kohlensäure in diesem Puffer ist, wie oben gezeigt wurde, so gering, dass sie die Versuchsergebnisse kaum merkbar beeinflusst.

Bei den Versuchen waren stets auch gleichzeitig Haare in 3 mal verdünntem Puffer ohne Basenzusatz vorhanden. Es erwies sich, dass dieser Puffer bei gewissen Versuchen sehr rasch die der Schnittfläche am nächsten gelegene Zelle blau färbte, dass aber die Pufferwirkung dann für die ganze Zeit des Versuches hierbei haltmachte. Diese Erscheinung beruht offenbar darauf, dass die erwähnte Zelle beim Abschneiden des Haares verletzt worden und erkrankt war, so dass der Puffer fast sofort eindrang. Deshalb wurde in diesen Fällen nicht die Färbungszeit der ersten Zelle als Zeit genommen, sondern die Zeitspanne von der Blaufärbung der ersten Zelle (in welche dem Obigen zufolge die Aussenlösung fast momentan eindrang) bis zur Verfärbung der zweiten Zelle.

Im übrigen wurde die Berechnung der P-Werte ebenso wie bei *Rhoeo* zwecks Eliminierung der aus der Verschiedenheit der zufälligen Versuchsverhältnisse entstehenden Fehler auf die Weise ausgeführt, dass zuerst (aus achtzehn Versuchen) das mittlere P von Ammoniak berechnet wurde und dann aus jedem einzelnen Versuch die P-Werte der anderen darin untersuchten Basen, proportional diesem Mittelwert von Ammoniak. Die Einzelwerte von Ammoniak waren: 4.1, 3.5, 3.4, 7.2, 8.4, 5.3, 5.3, 4.8, 5.7, 3.3, 4.8, 12.0, 13.3, 16.2, 9.6, 7.2, 15.0, 8. (also im Mittel 7.6). Das Ergebnis ist folgendes (die fettgedruckten Zahlen stellen Mittelwerte dar):

Tabelle 6.

Base	K_{BOH}	P-Werte	Base	K_{BOH}	P-Werte
Cocain	$10^{-5.59}$	38.0 — — **38.0**	Cevadin	$10^{-5.15}$	2.0 3.8 — **2.9**
Benzylamin..	$10^{-4.62}$	13.3 7.6 — **10.5**	Brucin	$10^{-6.04}$	2.7 — — **2.7**
Ammoniak ..	$10^{-4.76}$	— — — **7.6**	Hydrazin	$10^{-6.10}$	2.4 2.8 1.6 **2.3**
Piperidin	$10^{-2.80}$	7.3 — — **7.3**	Atropin	$10^{-4.35}$	2.0 1.7 — **1.9**
Diäthylamin.	$10^{-2.90}$	7.2 — — **7.2**	Äthylendiamin	$10^{-4.07}$	0.43 0.28 — **0.34**
i-Amylamin..	$10^{-3.30}$	7.1 — — **7.1**	Glucosamin ..	$10^{-6.20}$	< 1.0 — — < 1.0
Methylamin..	$10^{-3.30}$	5.0 4.9 — **5.0**			

Der Vergleich der erzielten Ergebnisse mit den an *Rhoeo* gewonnenen erweist, dass beide Objekte sich im grossen und ganzen analog verhalten. Die P-Werte von *Tradescantia* scheinen nur im allgemeinen höher zu sein, aber die Reihenfolge der Permeiervermögen der untersuchten Basen ist annähernd die gleiche. Cocain erreichte bei *Tradescantia* einen sehr hohen P-Wert, aber das Ergebnis ist aller Wahrscheinlichkeit nach ziemlich ungenau. Ammoniak

hat in der Tabelle einen relativ grösseren P-Wert als bei den *Rhoeo*-Versuchen, Amylamin dagegen und besonders Cevadin und Atropin weisen relativ kleinere P-Werte auf. Es ist wohl anzunehmen, dass der Grund zu dem Gesagten wenigstens teilweise (vielleicht auch ausschliesslich) darin liegt, dass die Lösung nicht geschüttelt wurde, so dass die kleinmolekularen Basen infolge ihrer grossen Hydrodiffusibilität in einer vorteilhafteren Lage sind als die sehr grossmolekularen. Auch kann die Zellmembran das Permeieren der ausgesprochen grossmolekularen Stoffe bedeutend verlangsamen.

4. Experimente mit Lemna minor.

A. Die allgemeinen Grundlagen der Methode.

Die Wurzelzellen von *Lemna minor* sind farblos, wodurch sie an und für sich zur Prüfung des Permeiervermögens der Basen auf kolorimetrischem Wege ungeeignet sind.

Sie wurden deshalb vor dem Versuch vital mit Neutralrot gefärbt. Wenn die vorhin (vgl. S. 10 f.) aufgestellte und begründete Arbeitshypothese von dem sehr langsamen Permeieren des dissoziierten Teils schwacher Elektrolyte in die lebende Zelle — verglichen mit ihrem nicht-dissoziierten Teil — auch für Neutralrot zutrifft (Neutralrot ist eine schwache Base, $K_{BOH} = 10^{-6.6}$ Kolthoff 1923 S. 41), was wahrscheinlich ist (vgl. Harvey 1911, Irwin 1926 u. a.), so dringt der Farbstoff praktisch nur in seiner undissoziierten Pseudoform in die Wurzelzellen ein. Auf Grund der sauren Reaktion des Zellsaftes (ph = 5—6, vgl. unten) dissoziiert der Farbstoff zum grössten Teil in den Zellen und verwandelt sich dabei in seine Basoform. Die Permeation setzt sich weiter fort, bis das Diffusionsgleichgewicht in bezug auf die Pseudoform erreicht ist.

Wird nun die gefärbte Wurzel — einerlei, ob die Färbung das Gleichgewicht erreicht hat oder nicht — in reines Wasser gebracht, so fängt die Pseudoform an, aus den Zellen heraus in die umgebende Flüssigkeit zu diffundieren, in welcher ihre Konzentration bei Beginn des Prozesses = 0, das Diffusionsgefälle also =[Pseudo] im Zellsaft ist. Da das Volumen der Aussenflüssigkeit im Vergleich zum Volumen der Wurzel sehr gross ist, bleibt die Konzentration der Pseudoform in der Aussenflüssigkeit praktisch gleich 0, und das Diffusionsgefälle ist also gleich der stets abnehmenden Konzentration der Pseudoform im Zellinnern. Die Pseudoform diffundiert ununterbrochen aus den Zellen, die Basoform des Zellinnern wandelt sich infolgedessen fortgesetzt in die Pseudoform um, und die Farbe verschwindet so allmählich — wenn der geschilderte Gedankengang richtig ist — gänzlich aus den Zellen. Während dieses Prozesses verändert sich die Farbennuance des Neutralrots der Zellen offenbar

nicht wesentlich. Höchstens ist die Reaktion des Zellsaftes zu Anfang der Diffusion, wo noch reichlich Neutralrotbase in der Zelle vorhanden ist, trotz der Schwäche der Farbenbase ein klein wenig nach der alkalischen Seite verschoben und nähert sich gegen das Ende des Prozesses immer mehr ihrem ursprünglichen Wert. Der Unterschied ist jedoch schwer zu beobachten, da die ph-Veränderung gering ist und Neutralrot bei saurer Reaktion (ph = 5—6) ein sehr wenig empfindlicher Indikator ist.

Bringt man hingegen die gefärbte Wurzel in die Lösung einer permeierfähigen schwachen Base, so dringt die Base in die Zellen ein, auf diese Weise den ph-Wert des Zellsaftes erhöhend. Wenn die ph-Steigerung hinreichend gross und geschwind ist, sieht man die Nuance des Neutralrots im Zellinnern sich deutlich in alkalischer Richtung verändern. Ob nun dieser Farbenumschlag stattfindet oder nicht, — jedenfalls vergrössert die Erhöhung des ph-Wertes die Konzentration der Pseudoform im Zellsaft und damit das wirksame Diffusionsgefälle, wodurch die Entfärbung in solchen Lösungen rascher vor sich geht als in Abwesenheit der permeierenden Base.

Wenn nun die Entfärbungszeit unter dem Einfluss der einen schwachen Base kürzer ist als unter dem Einfluss einer anderen Base bei einer bestimmten Konzentration der undissoziierten Base in der Aussenlösung, so kommen dafür zwei Hauptursachen in Betracht (vorausgesetzt natürlich, dass keine von beiden die Permeabilitätseigenschaften der Wurzelzellen merklich verändert):

1) Die erstere Base hat ein grösseres Permeiervermögen als die letztere.
2) Die erstere Base ist stärker als die letztere.

Die verschiedene Stärke der Basen kann sich nämlich bei den Permeabilitätsexperimenten in folgendem äussern:

a) Darin, dass von einer stärkeren Base eine geringere Menge im Zellsaft nötig ist als von einer schwächeren, um eine solche intrazellulare ph-Steigerung und entsprechende Zunahme des Diffusionsgefälles der Pseudoform zu bewirken, dass das Neutralrot rasch aus den Zellen verschwindet. Wie steht es nun in dieser Hinsicht mit den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Basen? Um eine Antwort hierauf zu finden, muss man sich erinnern, dass Neutralrot eine sehr schwache Base ist, deren $K_{BOH} = 10^{-6.6}$ beträgt. $\varrho_{\text{Neutralrot}}$ beträgt also im ursprünglichen Zellsaft (ph = 5—6, durchschnittlich vielleicht 5.5) etwa 0.01, bei ph = 7 schon 0.17 und bei ph = 8 sogar 0.8. Da nun die undissoziierte Neutralrotbase sehr leicht durch das lebende Plasma permeiert, so versteht man, dass bereits, wenn der ph-Wert des Zellsaftes auf 7 gestiegen ist, eine rasche Diffusion des Farbstoffes nach aussen erfolgt, denn er findet sich ja zu 17 % in Form der sehr permeationsfähigen freien Base. Bei ph = 8 im Zellinnern ist die Farbstoffexosmose selbstverständlich noch bedeutend schneller, während nicht zu erwarten ist, dass eine weitere

Steigerung des intrazellularen ph-Wertes die Exosmosegeschwindigkeit sehr viel erhöhen wird (bei ph = 8 sind ja bereits 80 % des Farbstoffes in permeationsfähiger Form). Welche relativen Mengen der verschieden starken Basen sind nun im Zellsaft nötig, um seinen ph-Wert auf 7 bzw. 8 zu erhöhen? Eine einfache Berechnung ergibt, dass die Totalmenge der stärksten untersuchten Base, des Piperidins, welche nötig ist, um den ph-Wert einer beliebigen Säurelösung auf 7 zu erhöhen, *praktisch ebenso gross* ist wie die zum selben Zweck erforderliche Menge der schwächsten untersuchten Base, des Glucosamins. Aber selbst wenn es gilt, den ph-Wert auf 8 zu steigern, ist, wenn die hierzu nötige Piperidinmenge mit 1 bezeichnet wird, die erforderliche relative Menge Cevadin nicht grösser als 1.1, während von Cocain 1.4, von Brucin 2.2, von Hydrazin 2.3 und von Glucosamin 2.6 gebraucht wird. Zusammenfassend kann man also sagen, dass die intrazellularen Totalmengen der untersuchten verschieden starken Basen, welche nötig sind, um die Entfärbung der mit Neutralrot gefärbten Zellen herbeizuführen, wahrscheinlich immer praktisch gleich gross waren. Höchstens wurde von den allerschwächsten Basen (Glucosamin, Hydrazin und Brucin, vielleicht auch Cocain) ein wenig mehr als von den übrigen gebraucht.

b) Darin, dass bei gleicher [BOH][1]) in der Aussenlösung das mittlere Diffusionsgefälle einer schwächeren Base hinsichtlich der undissoziierten Moleküle merklich kleiner sein kann als das einer stärkeren Base, was darauf zurückzuführen ist, dass die Konzentration der freien Base im Zellsaft im Falle der schwächsten untersuchten Basen so hoch steigen kann, dass sie der Konzentration der freien Base in der Aussenlösung nahe kommt. Diese Gefahr ist selbstverständlich um so grösser, je höher der ph-Wert im Zellinnern steigen muss, um die Entfärbung der Zelle herbeizuführen. Im übrigen stützen sich leider alle Äusserungen hinsichtlich dieses wichtigen, bei Aufstellung der Permeationsreihenfolge der verschiedenen Basen auf Grund der Entfärbungszeiten unbedingt in Betracht zu ziehenden Umstandes bei den folgenden Experimenten nur auf mutmassliche und mittelbare Schlussfolgerungen. Denn man kennt ja nicht die [BOH] im Innern der Zelle bei den verschiedenen ph-Werten und kann also auch unmöglich wissen, ob die [BOH] der Aussenlösung noch so gross ist, dass auch die schwächste Base in dieser Konzentration den ph-Wert des Zellsaftes auf mindestens 7 (besser noch auf 8) zu steigern vermag, ohne dass ihr durchschnittliches Diffusionsgefälle während dieses Prozesses allzusehr von dem durchschnittlichen Diffusionsgefälle der stärkeren Basen abweicht.[2])

---

[1]) Unter [BOH] wird hier und im folgenden immer die Konzentration der permeierenden *farblosen* Base verstanden, *nicht* die Konzentration der *Farbenbase*.

[2]) Erst nachdem Obiges niedergeschrieben war, ist es dem Verf. klar geworden, dass eine Bestimmung der für einen bestimmten Entfärbungsgrad

Gegen die Anwendung von Neutralrotentfärbung als Kriterium des Permeiervermögens der verschiedenen Basen kann man den Einwand erheben, dass die Bestandteile des Zellsaftes, namentlich die Eiweissstoffe, möglicherweise Komplikationen im Dissoziationszustand des Neutralrots im Zellinnern bewirken und so die Stichhaltigkeit der früheren, auf das Verhalten von reinen wässerigen Lösungen gegründeten Darstellungen gefährden könnten. HARVEY's (1913) Untersuchung über den Einfluss schwacher Basen auf Neutralrot bei Anwesenheit von Eiweissstoffen scheint jedoch die obige Darstellung zu rechtfertigen. Es wurden auch bei vorliegender Arbeit Versuche angeordnet, die dies bestätigen. Wenn man nämlich mit Neutralrot gefärbte *Lemna*-Wurzeln durch Erhitzen in Pufferlösungen (ph =6, 7 und 8) tötet, so dringt der Puffer schnell in die Zellen ein und verursacht sofort einen dem ph-Wert der Aussenlösung entsprechenden Farbenumschlag im Zellinnern.

Bei der Berechnung der Entfärbungsfähigkeiten der verschiedenen Basen in den mit *Lemna* ausgeführten Versuchen wendet man als Vergleichswert am besten die Entfärbungszeit in dem betreffenden Puffer an. Im Puffer schwindet nämlich die Farbe der Zellen rascher als in reinem Wasser und in verschiedenen Puffern mit verschiedenen Geschwindigkeiten. (Die Ursache hierzu liegt vielleicht darin, dass die *Lemna*-Zellen in geringem Masse auch für Bestandteile des Puffers permeabel sind. Die Frage bleibt offen, und eine besonders grosse Bedeutung für das Wesen der Versuchsergebnisse ist ihr wohl kaum beizumessen.)

Hieraus ergibt sich, dass die so berechneten proportionalen Entfärbungszeiten für die verschiedenen Basen — auch wenn man sie entsprechend den intrazellularen Totalmengen der Basen und dem Diffusionsgefälle berechnen könnte, was nach dem Vorhergehenden nicht möglich war — nicht angeben, wievielmal rascher die eine Base als die andere in die Wurzelzellen von *Lemna minor* permeierte, sondern sie geben höchstens nur einen Begriff von der Permeationsreihenfolge der Basen, insofern die in Passus b dargelegte Fehlerquelle die Ergebnisse nicht zu sehr beeinflusst.

Als Kriterium des Lebens der Wurzelzellen galt bei allen Versuchen die normale Plasmolyse, welche gleich nach Beendigung des Versuchs mittels

---

erforderlichen intrazellularen [BOH] nicht unmöglich gewesen wäre. Zu diesem Zweck wäre dasselbe Verfahren einzuschlagen wie das auf S. 34 f. für *Rhoeo* beschriebene, nur mit dem Unterschied, dass gleichzeitig eine bestimmte Neutralrotbasenkonzentration in der Aussenlösung zu verwenden wäre. Dieselbe Farbenbasenkonzentration wäre dann auch in allen eigentlichen Entfärbungsversuchen zu benutzen. In dieser Weise würde man bei *Lemna* zu ebenso sicher begründeten (und — wegen der grösseren Empfindlichkeit des Neutralrots als Indikator — vielleicht noch genaueren) Permeabilitätsbestimmungen wie an *Rhoeo* gelangen können.

KNO_3 hervorgerufen wurde. Bei allen folgenden Versuchen waren die Wurzelzellen nach Beendigung des Versuchs normal plasmolysierbar, ihr Lebenszustand demnach unter den während der Versuchsdauer selber obwaltenden Umständen offenbar gut. Dies macht es wohl wahrscheinlich, dass die Permeabilitätseigenschaften beim Versuch ziemlich normal bleiben.

Die Versuche mit *Lemna* sind — ebenso wie die mit *Tradescantia virginica* — wegen der Unvollständigkeit ihrer Ergebnisse nur als rein orientierend anzusehen, und ihre Hauptbedeutung liegt darin, dass sie eine gewisse Bestätigung der an *Rhoeo discolor* erzielten Ergebnisse bei einem anderen Objekt darstellen.

B. Ausführung und Ergebnisse der Versuche und Vergleich mit Rhoeo und Tradescantia.

Um ein möglichst homogenes Versuchsmaterial zu bekommen, wurden höchstens 1 cm lange, gleich aussehende Wurzeln sehr sorgfältig ausgesucht, unter der Wasserleitung gewaschen und mit Neutralrot gefärbt.

Als die Färbung durchschnittlich die gewünschte Stärke erlangt hatte, wurde für das auszuführende Experiment von diesen Wurzeln die erforderliche Anzahl möglichst gleichmässig gefärbter Wurzeln ausgewählt.

Beim Prüfen der Entfärbung wurde die gesamte Wurzel (Wurzelrinde und Zentralzylinder) als ein Ganzes betrachtet. Um Übereinstimmung zu erreichen, wurde die Farbennuance immer in demjenigen Wurzelstück geprüft, welches von der Wurzelbasis aus im Gesichtsfeld des Mikroskops bei schwacher Vergrösserung Platz hatte.

Zwecks möglichst quantitativer Bestimmung der Entfärbung wurde folgendes Verfahren eingeschlagen:

Als Endpunkt der Neutralrotfärbung, von dem an also die Entfärbung beim eigentlichen Versuch anfing, wurde eine beliebige, ziemlich dunkelrote Farbennuance gewählt, die man immer in der dem eigentlichen Versuch vorhergehenden Färbung zu erreichen suchte. Durch Prüfung der Entfärbung der im reinen Puffer (dessen Entfärbungsvermögen nach dem Vorhergehenden immer die Einheit darstellte) befindlichen Wurzeln erhielt man nach Ablauf regelmässiger Zwischenzeiten eine Skala immer hellerer Farbennuancen, die alles in allem 6 Glieder umfasste, deren Nuancen auf Papierstreifen gemalt wurden. Zwecks genauer graphischer Darstellung des Entfärbungsprozesses war es nötig, noch den für jedes Skalenglied bestimmten Zahlenwert zu finden. Diese Werte wurden mittels eines auf das Gillespie'sche System gegründeten Kolorimeters so bestimmt, dass im Kolorimeter anstelle der zu prüfenden Lösung der die betreffenden, zu bestimmenden Farbennuancen enthaltende Papierstreifen gehalten wurde. Als Vergleichslösung diente eine Neutralrotlösung, in welcher beim Experimentieren die Nuance hervorgerufen wurde, welche möglichst genau sowohl der ursprünglichen dunkelsten Färbungsnuance (A) als verdünnt auch den folgenden fünf Farbenabstufungen (B, C, D, E und F) entsprach.

Setzt man für die dunkelste Nuance (A) der Skala den Zahlenwert 100, so erhält man für die anderen Glieder der Skala ungefähr die folgenden Zahlenwerte: B=60, C=30, D=15, E=8, F=4.

Ausser diesen Hauptfärbungsgraden wurden im Protokoll noch Zwischengrade angewandt.

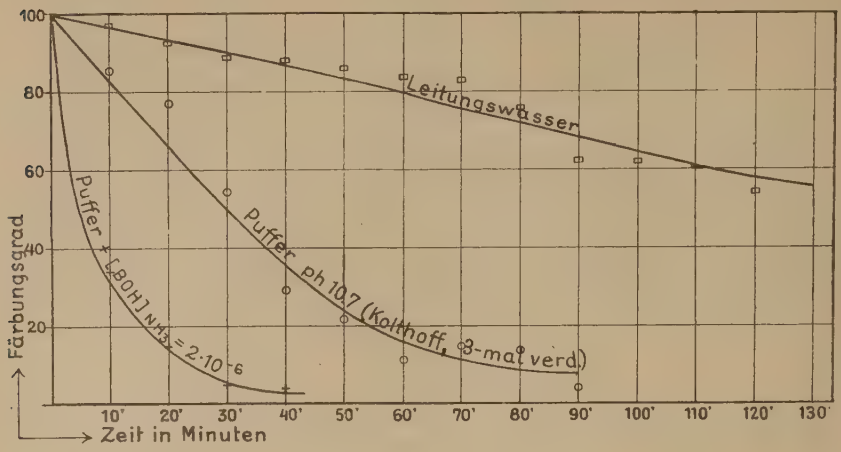
Als Beispiel für die Anwendung dieser Skala und zur anschaulichen Darstellung der Ergebnisse mag der die Entfärbung der Wurzeln in reinem, 3 mal verdünntem Kolthoff'schen Puffer zeigende Versuch dienen. In diesem Versuch wurde die anfängliche Farbennuance von 5 Wurzeln bestimmt, und bei jedem Beobachtungspunkt wurde die Entfärbung von mindestens 5 (stets neuen) Wurzeln durch Vergleich mit der Entfärbungsskala geprüft (vgl. Gruppe II der Versuchsserien). Das Versuchsprotokoll hat folgendes Aussehen:

Tabelle 7.

Wurzel	Färbungsgrad nach									
	0′	10′	20′	30′	40′	50′	60′	70′	80′	90′
1	100	60	60	37	30	30	8	15	8	0
2	100	90	90	70	30	15	18	8	7	8
3	100	80	100	60	37	30	15	30	7	0
4	100	100	52	60	15	47	9	8	37	0
5	100	100	90	48	30	23	11	17	9	4
Mittel	100	86	78	54	29	21	12	16	14	2

Mit Hilfe der zu verschiedenen Zeitpunkten gewonnenen durchschnittlichen Entfärbungszahlenwerte wurde die Entfärbung graphisch in Kurven dargestellt mit der Zeit als Abszisse und dem betreffenden Zahlenwert des Färbungsgrades als Ordinate (siehe Figur 5). In der Figur ist ausserdem die bei dem am gleichen Tage ausgeführten Versuch gewonnene Kurve für den Entfärbungsprozess von Puffer+Ammoniak eingezeichnet ($[BOH]_{NH_3}$ in der Aussenlösung $= 2 \cdot 10^{-6}$) sowie ausserdem die mittels der in Gruppe I der Versuchsserien (vgl. w. u.) angewandten Methode gewonnene Kurve für die Entfärbung der Wurzeln in reinem Leitungswasser.

Zu bemerken ist, dass, wenn die durchschnittliche Anfangsfärbung nicht 100, sondern kleiner, z. B. 80 ist, der Anfangspunkt der Kurve dessenungeachtet auf 100 verlegt wird und die anderen Punkte entsprechend ebensoviel % höher berechnet werden. Erst danach wird die Kurve gezeichnet. Mit Hilfe der gewonnenen annähernden Kurven werden die Zeitwerte für die Augenblicke bestimmt, in denen die Färbung unter dem Einfluss der verschiedenen Lösungen sich bis zu 80, 60, 40 und 20 % ihres ursprünglichen Wertes entfärbte. Wollte man nun z. B. den proportionalen Wert der Entfärbungszeit von Ammoniak aus den geschilderten Versuchen erfahren, so bestimmte man das Verhältnis der so gefundenen verschiedenen Entfärbungszeitwerte von Puffer+Ammoniaklösung zu den entsprechenden Zeitwerten des reinen Puffers und multiplizierte mit 100. Da die Kurve bis zum Entfärbungsgrad 20 % so verläuft, dass die gewonnenen Verhältniszahlen annähernd gleich gross sind, kann man ohne erhebliche Fehler den Durchschnittswert der Verhältniszahlen berechnen und ihn als



Figur 5.

mittleren Entfärbungszeitwert des Ammoniaks annehmen, wenn der entsprechende Wert des Puffers = 100 ist. Bei diesem Verfahren kommt man zu nachstehenden Ergebnissen:

	80 %	60 %	40 %	20 %		
Ammoniak + Puffer	2′	4′	7′	14′		
Reiner Puffer	12′	24′	35′	54′		
100 × Verhältnis	17	17	20	26	Mittel	20

Als mittleren Entfärbungszeitwert des Ammoniaks (tatsächlich Ammoniak + Puffer) erhält man also in diesem Falle 20, wenn der entsprechende Wert des reinen Puffers 100 ist.

Aus diesen Darlegungen geht klar hervor, dass die Fehler beim Arbeiten mit dieser Methode bedauerlich gross sind (siehe besonders die Kurventafel und das Versuchsprotokoll). Als grösste Fehlerquelle ist die trotz der sehr sorgfaltigen Auswahl immer noch beträchtliche Heterogenität des Versuchsmaterials anzusehen. Dieselbe äusserte sich erstens darin, dass die Anfangsfärbung trotz aller Bemühungen nicht immer genau dem Grad A (= 100) entsprach. War sie heller als A, so konnte man dem durch entsprechende Erhöhung der obenerwähnten Punkte bedeutend abhelfen. War sie hingegen dunkler, so war die Sache schwer festzustellen. Bereits um den Grad A herum sind nämlich sogar ziemlich grosse Unterschiede in der Färbungsintensität schwer zu erkennen, so dass wahrscheinlich häufig mit A sehr viel mehr Farbe enthaltende Wurzeln bezeichnet wurden. Zweitens erfolgte die Entfärbung in verschiedenen Wurzeln oft mit sehr verschieden grosser Geschwindigkeit, was teilweise offenbar daher rührte, dass sich in einigen ursprünglich mehr Farbe

angesammelt hatte als in anderen, teilweise aber offenbar auch auf unbekannten physiologischen Unterschieden der verschiedenen Wurzeln beruhte. Drittens entsteht dadurch eine erhebliche Schwierigkeit, dass die Entfärbung verschiedener Wurzeln oft mit verschiedenen Nuancen stattfindet. Am meisten herrschte zwar die in der Skala hervortretende rötliche Nuance vor, doch kam es auch ziemlich oft vor, dass die Wurzelfarbe schon ganz im Anfang der Entfärbung in das Orangefarbene spielte und diese Nuance bis zuletzt bestehen blieb.

Hierzu kommt nun noch der sehr grosse Fehler der kolorimetrischen Methode an sich (ca. 10 %).

Das einzige Mittel, wenigstens annähernd richtige Resultate zu erzielen, war, bei jedem Zeitpunkt möglichst viele Wurzeln zu prüfen (in Gruppe I der Versuchsserien 10 Stück, in Gruppe II 5 Stück, vgl. w. u.), deren mittlere Färbungsgrade hoffentlich ein annähernd richtiges Bild von dem Verlauf der Entfärbungskurve der in Frage stehenden Lösung gaben.

Durch spezielle Versuche wurde festgestellt, dass die Färbung der Zellen sich zum weitaus grössten Teil auf den Zellsaft bezieht — nicht auf die Membran, — so dass auch die Entfärbung zum grössten Teil ein Herausdringen der Farbe aus dem Innern der Zelle und nicht aus der Membran gewesen ist.

Gruppe I der Versuchsserien. (Die Lösungen wurden während des Versuchs nicht gemischt.)

Bei diesen Versuchen wurde die Färbung der Wurzeln anfangs in 500 ccm Neutralrotlösung in Leitungswasser ausgeführt, wobei die Farbenkonzentration 10^{-5} war. Die Färbungsdauer betrug durchschnittlich 1 Stunde. Zur Erzielung gleichmässigerer Färbungsresultate wurde in den späteren Versuchen der Farblösung 10 ccm Phosphat-Puffer von Sörensen zugesetzt.

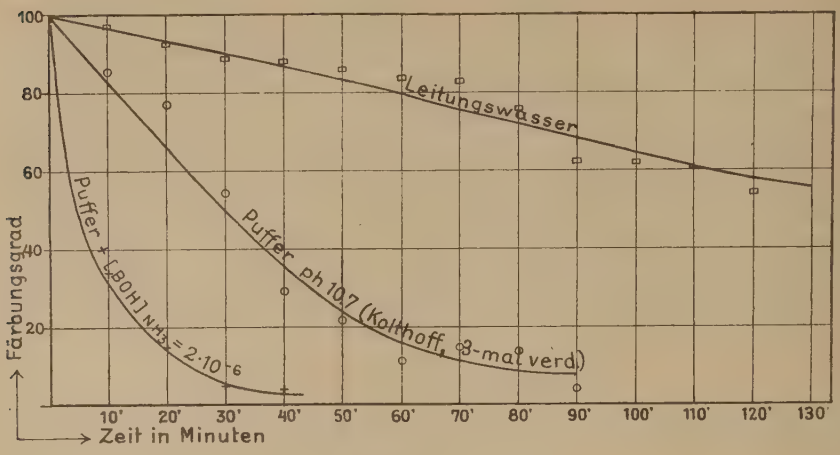
Die eigentlichen Versuche mit derartig gefärbten Wurzeln wurden so ausgeführt, dass beim selben Versuch die zu prüfende Base im betreffenden Puffer wie auch blosser Puffer geprüft und beide in je fünf kleine, mit Deckel versehene Glaszylinder von je 50 ccm verteilt wurden. In den 5 blossen Puffer enthaltenden Zylindern waren je 2 Pflanzen, ebenso in den 5 Puffer + Base enthaltenden (in jeder der beiden Lösungsarten also zusammen 10 Stück). Die Prüfung jeder Wurzel wurde alle 10 Minuten vorgenommen.

Nach diesem Verfahren wurden im ganzen 3 verschiedene Versuchsserien ausgeführt, nämlich:

I) Im Carbonatgemisch von Auerbach und Pick, unverdünnt, ph = 9.6, worin [BOH] = $1.4 \cdot 10^{-3}$ war.

II) In demselben Carbonatgemisch von Auerbach und Pick, 2.5 mal verdünnt, worin [BOH] = $1.4 \cdot 10^{-6}$ war.

III) In Kolthoff'schem, 3 mal verdünntem Carbonatpuffer ph = 10.7 (ursprünglich ph = 10.86), worin [BOH] = $1.9 \cdot 10^{-6}$ war.



Figur 5.

mittleren Entfärbungszeitwert des Ammoniaks annehmen, wenn der entsprechende Wert des Puffers = 100 ist. Bei diesem Verfahren kommt man zu nachstehenden Ergebnissen:

	80 %	60 %	40 %	20 %		
Ammoniak + Puffer	2′	4′	7′	14′		
Reiner Puffer	12′	24′	35′	54′		
100 × Verhältnis	17	17	20	26	Mittel	20

Als mittleren Entfärbungszeitwert des Ammoniaks (tatsächlich Ammoniak + Puffer) erhält man also in diesem Falle 20, wenn der entsprechende Wert des reinen Puffers 100 ist.

Aus diesen Darlegungen geht klar hervor, dass die Fehler beim Arbeiten mit dieser Methode bedauerlich gross sind (siehe besonders die Kurventafel und das Versuchsprotokoll). Als grösste Fehlerquelle ist die trotz der sehr sorgfaltigen Auswahl immer noch beträchtliche Heterogenität des Versuchsmaterials anzusehen. Dieselbe äusserte sich erstens darin, dass die Anfangsfärbung trotz aller Bemühungen nicht immer genau dem Grad A (= 100) entsprach. War sie heller als A, so konnte man dem durch entsprechende Erhöhung der obenerwähnten Punkte bedeutend abhelfen. War sie hingegen dunkler, so war die Sache schwer festzustellen. Bereits um den Grad A herum sind nämlich sogar ziemlich grosse Unterschiede in der Färbungsintensität schwer zu erkennen, so dass wahrscheinlich häufig mit A sehr viel mehr Farbe enthaltende Wurzeln bezeichnet wurden. Zweitens erfolgte die Entfärbung in verschiedenen Wurzeln oft mit sehr verschieden grosser Geschwindigkeit, was teilweise offenbar daher rührte, dass sich in einigen ursprünglich mehr Farbe

angesammelt hatte als in anderen, teilweise aber offenbar auch auf unbekannten physiologischen Unterschieden der verschiedenen Wurzeln beruhte. Drittens entsteht dadurch eine erhebliche Schwierigkeit, dass die Entfärbung verschiedener Wurzeln oft mit verschiedenen Nuancen stattfindet. Am meisten herrschte zwar die in der Skala hervortretende rötliche Nuance vor, doch kam es auch ziemlich oft vor, dass die Wurzelfarbe schon ganz im Anfang der Entfärbung in das Orangefarbene spielte und diese Nuance bis zuletzt bestehen blieb.

Hierzu kommt nun noch der sehr grosse Fehler der kolorimetrischen Methode an sich (ca. 10 %).

Das einzige Mittel, wenigstens annähernd richtige Resultate zu erzielen, war, bei jedem Zeitpunkt möglichst viele Wurzeln zu prüfen (in Gruppe I der Versuchsserien 10 Stück, in Gruppe II 5 Stück, vgl. w. u.), deren mittlere Färbungsgrade hoffentlich ein annähernd richtiges Bild von dem Verlauf der Entfärbungskurve der in Frage stehenden Lösung gaben.

Durch spezielle Versuche wurde festgestellt, dass die Färbung der Zellen sich zum weitaus grössten Teil auf den Zellsaft bezieht — nicht auf die Membran, — so dass auch die Entfärbung zum grössten Teil ein Herausdringen der Farbe aus dem Innern der Zelle und nicht aus der Membran gewesen ist.

Gruppe I der Versuchsserien. (Die Lösungen wurden während des Versuchs nicht gemischt.)

Bei diesen Versuchen wurde die Färbung der Wurzeln anfangs in 500 ccm Neutralrotlösung in Leitungswasser ausgeführt, wobei die Farbenkonzentration 10^{-5} war. Die Färbungsdauer betrug durchschnittlich 1 Stunde. Zur Erzielung gleichmässigerer Färbungsresultate wurde in den späteren Versuchen der Farblösung 10 ccm Phosphat-Puffer von Sörensen zugesetzt.

Die eigentlichen Versuche mit derartig gefärbten Wurzeln wurden so ausgeführt, dass beim selben Versuch die zu prüfende Base im betreffenden Puffer wie auch blosser Puffer geprüft und beide in je fünf kleine, mit Deckel versehene Glaszylinder von je 50 ccm verteilt wurden. In den 5 blossen Puffer enthaltenden Zylindern waren je 2 Pflanzen, ebenso in den 5 Puffer + Base enthaltenden (in jeder der beiden Lösungsarten also zusammen 10 Stück). Die Prüfung jeder Wurzel wurde alle 10 Minuten vorgenommen.

Nach diesem Verfahren wurden im ganzen 3 verschiedene Versuchsserien ausgeführt, nämlich:

I) Im Carbonatgemisch von Auerbach und Pick, unverdünnt, ph = 9.6, worin [BOH] = $1.4 \cdot 10^{-3}$ war.

II) In demselben Carbonatgemisch von Auerbach und Pick, 2.5 mal verdünnt, worin [BOH] = $1.4 \cdot 10^{-6}$ war.

III) In Kolthoff'schem, 3 mal verdünntem Carbonatpuffer ph = 10.7 (ursprünglich ph = 10.86), worin [BOH] = $1.9 \cdot 10^{-6}$ war.

Die ph-Werte wurden mittels Phenolphthalein bzw. Salicylgelb nach Michaelis bestimmt.

Die Ergebnisse wurden graphisch aufgezeichnet und wie oben geschildert berechnet (Tabelle 8). (Diese Versuchsserien wurden vor den *Rhoeo*-Versuchen ausgeführt, und einige später geprüfte Basen fehlen hier noch.)

Tabelle 8.

	Base	K_{BOH}	Relative Entfärbungszeit		
			Versuchsserie I	Versuchsserie II	Versuchsserie III
A	Piperidin	$10^{-2.80}$	15	5	9
A	Diäthylamin	$10^{-2.90}$	15	5	9
A	i-Amylamin	$10^{-3.30}$	15	5	9
A	Methylamin	$10^{-3.30}$	15	5	9
A	Benzylamin	$10^{-4.62}$	15	8	9
A	Ammoniak	$10^{-4.76}$	15	8	9
B	Hydrazin	$10^{-6.10}$	100	30	56
C	Äthylendiamin	$10^{-4.07}$	76	40	71
C	Glucosamin	$10^{-6.20}$	87	109	95
C	Puffer	—	100	100	100

Was kann man nun auf Grund der hier geschilderten Ergebnisse über die relative Fähigkeit dieser Basen, in die Wurzelzellen von *Lemna minor* zu permeieren, sagen? Nach dem Vorhergehenden ist es wahrscheinlich, dass der von der verschiedenen Stärke der Basen herrührende Unterschied hinsichtlich der erforderlichen Totalkonzentrationen in den Wurzelzellen den Entfärbungsprozess — wenigstens von der stärksten bis zum Cocain — nicht nennenswert beeinflusst. Dies gilt jedoch offenbar nur in den Fällen, wo die Säureäquivalentmenge des Zellsafts der Zellen bei den Versuchen mit verschiedenen Basen konstant bleibt. Nun sind jedoch die geschilderten Versuchsserien mit Carbonatpuffern ausgeführt, deren $[HA]_{CO_2}$ im Falle der Mischungen von Auerbach und Pick beträchtlich ist (in der unverdünnten $5.6 \cdot 10^{-5}$, in der 2.5 mal verdünnten $2.2 \cdot 10^{-5}$), in Kolthoff's 3 mal verdünntem Puffer dagegen gering ($= 3 \cdot 10^{-7}$). Über das Permeiervermögen des Puffers hat man keine ganz genaue Erfahrung. Es dürfte jedoch kaum zweifelhaft sein, dass die Kohlensäure bzw. CO_2 sein am raschesten permeierender Teil ist. Je länger nun die Entfärbungszeit einer Base ist, desto mehr permeiert die Kohlensäure aus der Pufferlösung in die *Lemna*-Zellen und steigert die Säureäquivalentmenge des Zellsaftes, was zur Folge hat, dass die intrazellulare Totalkonzentration einer solchen Base bei einem bestimmten ph-Wert innerhalb der Zelle grösser wird als die einer ebenso starken, rasch ent-

färbenden Base. Hieraus folgt natürlich wiederum, dass die Entfärbungszeit einer langsam entfärbenden Base unter der Einwirkung von CO_2 noch länger wird, als sie ohne die CO_2-Wirkung wäre (in Versuchsserie I hat dieser Umstand am stärksten mitgewirkt, da $[HA]_{CO_2}$ darin am grössten ist).

Dazu kommt, dass — da die [BOH] im Zellinnern während der Entfärbung nicht bekannt, aber bei den schwächsten Basen bedeutend grösser als bei den stärkeren ist (vgl. oben) — das mittlere Diffusionsgefälle in bezug auf die [BOH] bei den schwächeren Basen merklich geringer sein dürfte als bei den stärkeren, so dass die Entfärbungszeit der schwächsten Basen infolgedessen viel zu gross werden kann.

Der CO_2-Einfluss vergrössert bei langsam entfärbenden Basen noch diesen Fehler, da er beim Steigern der nötigen intrazellularen Totalmenge der Base zugleich die [BOH] im Zellinnern steigert und dadurch das Diffusionsgefälle vermindert.

Von den 6 ersten Basen der Tabelle ist Ammoniak die schwächste (das Diffusionsgefälle in bezug auf seine freie Base ist also während der Versuche am kleinsten), und die Stärke wächst gleichmässig bis zum Piperidin (dessen Diffusionsgefälle hinsichtlich der freien Base also am grössten war). Von dem Permeiervermögen dieser 6 Basen kann man also nach dem Vorhergehenden sagen, dass sie in die Wurzelzellen von *Lemna minor* mit mindestens ebenso grosser Geschwindigkeit wie Piperidin permeieren (ihre gegenseitige Permeationsreihenfolge bleibt dagegen eine offene Frage). Auf Grund dieser Ausführungen werden diese Basen hinsichtlich ihres Permeiervermögens zu einer Gruppe (A) vereinigt.

Äthylendiamin ist stärker als Ammoniak, sein Diffusionsgefälle hinsichtlich der freien Base ist also bei den Versuchen grösser als im Falle des Ammoniaks gewesen. Dessenungeachtet ist sein Entfärbungsvermögen nicht viel grösser als das des Puffers allein, wodurch deutlich zu Tage tritt, dass sein Permeiervermögen bedeutend kleiner ist als das der Basen in Gruppe A. Das Hydrazin ist wiederum eine bedeutend schwächere Base als alle vorhergehenden, sein Diffusionsgefälle ist infolgedessen und infolge des CO_2-Einflusses offenbar kleiner als dasjenige der vorhergehenden Basen gewesen, die intrazellulare Totalmenge wiederum infolge des letztgenannten Einflusses und wohl auch wegen ihrer Schwäche grösser. Trotzdem steht sein Entfärbungsvermögen zwischen Äthylendiamin und der Gruppe A (in Versuchsserie I zwar nach Äthylendiamin, aber in dieser Serie sind die störenden Faktoren, zumal in bezug auf Hydrazin, besonders gross), was darauf hinweist, dass es permeierfähiger ist als Äthylendiamin. Die Versuchsergebnisse gewähren offenbar keinen sicheren Aufschluss darüber, in welchem Verhältnis das Permeiervermögen des Hydrazins zum Permeiervermögen der Basen in der Gruppe A steht. Hydrazin bildet daher eine eigene Gruppe (B) zwischen der A-Gruppe

und Äthylendiamin. Glucosamin schliesslich ist annähernd ebenso stark wie Hydrazin. Der CO_2-Einfluss ist bei den Versuchen mit ihm auch ziemlich ähnlich gewesen. Die Versuchsergebnisse zeigen für Glucosamin (+Puffer) annähernd die Entfärbungsintensität des blossen Puffers. Auf Grund dieser Tatsache könnte man wohl sagen, dass Glucosamin langsamer als Hydrazin in die Wurzelzellen permeiert, aber man kann aus den Versuchen nicht schliessen, um wieviel langsamer, auch lässt sich nicht mit Sicherheit das Verhältnis des Permeiervermögens von Glucosamin zum Permeiervermögen von Äthylendiamin feststellen. Die zuletzterwähnten zwei Basen werden deshalb zu derselben Gruppe (C) vereinigt.

Vergleicht man die hier mitgeteilten Ergebnisse mit den vorhin bei *Rhoeo* und *Tradescantia* geschilderten, so kann man eine durchaus befriedigende Übereinstimmung feststellen.

Gruppe II der Versuchsserien. (Die Lösungen wurden während des Versuchs andauernd gemischt.)

Die in den vorhergehenden Versuchen angewandten Basenkonzentrationen waren klein, weswegen Zweifel darüber entstehen könnten, ob trotz des bei den Versuchen stattfindenden, alle 10 Minuten wiederholten Mischens bei der Entnahme der zu untersuchenden Pflänzchen Konzentrationsunterschiede zwischen den der Wurzel zunächst befindlichen und den weiter weg befindlichen Lösungsmassen entstehen. Deshalb wurden neue Versuche auf die Weise ausgeführt, dass die zu prüfende Mischung mit Hilfe eines von einem Elektromotor angetriebenen Rührers andauernd gemischt wurde.

In das Versuchsgefäss, in welchem die Mischung vor sich ging und das mit einem Deckel versehen war, wurde 1 Liter der jeweilig in Frage kommenden Lösung gegossen und mehrere Dutzend Wurzeln gelegt, die aufs sorgfältigste ausgewählt waren. Auch die Färbung ging bei dieser Gruppe durch Mischen vor sich, in einem Gefäss mit 1 Liter $5 \cdot 10^{-5}$ molarer Neutralrotlösung mit Zusatz von 25 ccm Phosphatpuffer (ph = 8). Die Färbungszeit war $^1/_2$ Stunde. Zu Beginn des Versuchs wurde der Färbungsgrad von 10 Wurzeln bestimmt und deren Durchschnittswert als Anfangsintensität der Färbung festgesetzt.

Bei dem Versuch wurde der Rührer nach je 10′ für eine Weile angehalten, immer fünf neue Pflanzen aus der Lösung genommen und der Färbungsgrad der Wurzeln mit Hilfe der Skala bestimmt und ihr Lebenszustand durch Plasmolysieren mit KNO_3 geprüft. Diese Versuche unterscheiden sich also von den vorhergehenden auch dadurch, dass in den früheren dieselben Wurzeln während der ganzen Versuchszeit kontrolliert wurden, in diesem hingegen jedesmal neue, wenn auch solche, die sich ursprünglich möglichst auf gleiche Weise färbten und beim Versuch später unter gleichen Verhältnissen waren. Ausserdem wurde immer nur eine Lösung zur gleichen Zeit geprüft (vorher wurden beim selben Versuch stets Base+Puffer sowie blosser Puffer

angewandt), aber zur Beseitigung der aus der Verschiedenheit der Verhältnisse herrührenden Fehler wurde immer nach einigen Versuchen das Entfärbungsvermögen des blossen Puffers bestimmt und das aus den nächsten Versuchen gewonnene Entfärbungsvermögen von Base+Pufferlösung damit verglichen. Die mittels der Mischungsmethode gewonnenen Entfärbungskurven wichen im allgemeinen nicht wesentlich von denen der vorhergehenden Versuchsgruppe ab (vielleicht sind sie etwas steiler). Nur bei sehr grossmolekularen Basen (Alkaloiden) war ganz deutlich ein Unterschied zu bemerken, wenn man ein paar Parallelversuche mit Mischen und ohne Mischen machte, was ja selbstverständlich erscheint, wenn man den Einfluss der von ihrer Molekülgrösse herrührenden verhältnismässig geringen Diffusibilität in Betracht zieht (vgl. später). In dieser Gruppe der Versuchsserien sind bereits alle in den *Rhoeo*-Versuchen geprüften Basen enthalten.

Es wurden zwei Versuchsserien ausgeführt:

I. In der 3 mal verdünnten Mischung ph = 9 von Auerbach und Pick, worin [BOH] in einem Teil der Versuche $1.9 \cdot 10^{-6}$ war, in einem anderen Teil $4.8 \cdot 10^{-6}$, im dritten Teil wiederum $9.5 \cdot 10^{-6}$.

II. In Kolthoff's 3 mal verdünntem Carbonatpuffer ph = 10.7 (ursprünglich ph = 10.86), in welchem [BOH] im einen Teil der Versuche $1.9 \cdot 10^{-6}$ war, im anderen Teil wiederum $9.5 \cdot 10^{-6}$.

Die Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse, welche auf ganz dieselbe Weise berechnet wurden, wie oben geschildert ist.

Die Tabelle gibt einen Begriff von den grossen Fehlern, welche trotz der Vorsichtsmassregeln mit den Versuchen verknüpft sind (vgl. z. B. die Zeitwerte des Ammoniaks). Dessenungeachtet kann man auch auf Grund dieser Ergebnisse die Basen übersichtlich in verschiedene Permeationsgruppen ordnen. Ein nach oben gerichteter Pfeil gibt an, dass die betreffende Base womöglich schneller permeiert, als auf Grund ihres relativen Zeitwertes allein zu schliessen ist (vgl. weiter unten).

Bei diesen Versuchen kommen selbstverständlich die in Verbindung mit der vorhergehenden Versuchsgruppe geschilderten unbekannten Schwankungen der Diffusionsgefälle und der intrazellularen Totalmengen der verschiedenen Basen in Betracht. Angesichts dieser Umstände kann man aus den Versuchsergebnissen folgenden Schluss ziehen: Zweifellos permeieren alle Diamine langsamer als andere Basen, denn das Diffusionsgefälle in bezug auf [BOH] konnte wegen ihrer Stärke nicht kleiner sein als das der Basen der A- und B-Gruppen. Unter den Diaminen scheint Cadaverin am permeierfähigsten zu sein, weshalb es in der Tabelle als letztes in die B-Gruppe eingerückt ist. Die lange Entfärbungszeit von Glucosamin, welches mit den drei noch übrigen Diaminen in die C-Gruppe eingereiht ist (wohin auch der blosse Puffer gehört), beweist hingegen nicht unbedingt, dass diese Base bezüglich

Tabelle 9.

Hauptgruppe	Untergruppe	Base	K_{BOH}	Versuchsserie I										Versuchsserie II							
				$[BOH] = 1.9 \cdot 10^{-6}$					$[BOH] = 4.8 \cdot 10^{-6}$			$[BOH] = 9.5 \cdot 10^{-6}$		$[BOH] = 1.9 \cdot 10^{-6}$					$[BOH] = 9.5 \cdot 10^{-6}$		
				Zeitwerte				Mittel	Zeitwerte		Mittel	Zeitwerte	Mittel	Zeitwerte				Mittel	Zeitwerte			Mittel
A	I	Piperidin	$10^{-2.80}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	22	—	—	—	22	—	—	—	—
		Diäthylamin	$10^{-2.90}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	21	—	—	—	21	—	—	—	—
		i-Amylamin	$10^{-3.30}$	8	—	—	—	8	—	—	—	—	—	20	15	—	—	18	—	—	—	—
		Methylamin	$10^{-3.30}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	22	—	—	—	22	—	—	—	—
		Trimethylamin	$10^{-4.13}$	—	—	—	—	—	—	—	—	8	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Benzylamin	$10^{-4.62}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25	—	—	—	25	—	—	—	—
		Ammoniak	$10^{-4.76}$	34	30	30	18	28	13	15	14	18	18	18	24	23	28	—	18	17	13	16
		»		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26	26	25	—	24	—	—	—	—
		Novocain ↑	$10^{-5.15}$	—	—	—	—	—	—	—	—	22	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	II	Atropin	$10^{-4.35}$	72	65	—	—	68	—	—	—	28	28	67	45	—	—	56	—	—	—	—
		Cocain ↑	$10^{-5.59}$	64	—	—	—	64	—	—	—	36	36	56	—	—	—	56	—	—	—	—
		Cevadin ↑	$10^{-5.15}$	66	—	—	—	66	—	—	—	—	—	82	—	—	—	82	—	—	—	—
		Hydrazin ↑	$10^{-6.10}$	106	86	—	—	96	—	—	—	—	—	66	—	—	—	66	—	—	—	—
B		Brucin ↑	$10^{-6.04}$	106	—	—	—	106	—	—	—	77	77	73	80	63	—	72	—	—	—	—
		Cadaverin	$10^{-3.13}$	—	—	—	—	—	83	—	83	—	—	—	—	—	—	—	68	47	80	65
		Putrescin	$10^{-3.29}$	—	—	—	—	—	104	—	104	—	—	—	—	—	—	—	97	107	—	102
		Trimethylendiamin	$10^{-3.46}$	—	—	—	—	—	103	—	103	—	—	—	—	—	—	—	117	—	—	117
C		Äthylendiamin	$10^{-4.07}$	110	—	—	—	110	118	—	118	104	104	66	89	—	—	78	117	—	—	117
		Glucosamin ↑	$10^{-6.20}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	103	—	—	—	103	—	—	—	—
		Puffer		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

ihres Permeiervermögens wirklich in die C-Gruppe gehört. Sie ist ja von allen die schwächste, weshalb (zum Teil infolge des CO_2-Einflusses, der freilich bei diesen Versuchen offenbar kleiner ist als bei den Versuchen der Gruppe I) ihr Diffusionsgefälle am allerkleinsten war und dazu vielleicht von ihr noch eine merkbar grössere Totalmenge als von den übrigen Basen im Zellinnern benötigt wurde.

Hydrazin und Brucin, die zu Gruppe B gehören, sind nach den obigen Ausführungen offenbar permeierfähiger als die Diamine, dagegen bleibt ihrer Schwäche wegen das Verhältnis ihres Permeiervermögens einerseits zu Glucosamin, andrerseits zu den Basen der A-Gruppe wohl unentschieden. Was die A-Gruppe betrifft, kann man bezüglich der Basen ihrer zweiten Untergruppe nur vom Atropin mit annähernder Sicherheit sagen, dass es langsamer permeiert als die Basen der A_I-Gruppe, denen es seiner Stärke nach gleicht. (Die Zersetzung des Atropins in alkalischen Lösungen (vgl. später) kann möglicherweise in gewissem Masse ihre Entfärbungsdauer verlängert haben.) Novocain, Cocain und Cevadin hingegen haben so lange Entfärbungszeiten höchst wahrscheinlich nur infolge des durch ihre Schwäche und den CO_2-Einfluss bewirkten kleineren mittleren Diffusionsgefälles und der grösseren Totalmenge im Zellinnern (Cocain vielleicht ausserdem dadurch, dass es sich in alkalischen Lösungen zersetzt, vgl. später). Gruppe A_I, deren Glieder sicher ebenso rasch wie Piperidin permeieren, permeiert also seiner Gesamtheit nach offenbar etwas rascher als Atropin, viel rascher als die untersuchten Diamine. Das Verhältnis des Permeiervermögens der Basen dieser Gruppe zum Permeiervermögen der anderen, zu Gruppe B und C gehörigen Basen geht hingegen aus den Ergebnissen nicht unbedingt klar hervor.

Der Vergleich mit den Ergebnissen bei *Lemna* in Gruppe I der Versuchsserien zeigt, dass die erhaltenen Resultate mit jenen übereinstimmen. Auch stehen sie offenbar in keinem deutlichen Widerspruch zu den mit *Rhoeo* und *Tradescantia* gewonnenen Ergebnissen. Bei Novocain, Cocain und Cevadin scheinen sich die beiden Objekte allerdings verschieden zu verhalten. Doch ist es auch denkbar, dass dies nur durch Unterschiede in den intrazellularen Totalmengen und dem Diffusionsgefälle bedingt ist, deren Grösse in den *Lemna*-Versuchen — im Gegensatz zu den Versuchen mit *Rhoeo* — nicht bestimmt werden konnte.

Die Ergebnisse der recht zeitraubenden und mühsamen *Lemna*-Versuche bleiben also leider unvollständig, was vor allem daran liegt, dass die Methode bei der Ausführung der Versuche noch nicht so vervollkommnet war, wie es tatsächlich möglich gewesen wäre (vgl. S. 64, Fussn. 2).

IV. Beziehungen zwischen den physikochemischen Eigenschaften der Basen und deren Permeiervermögen.

Bekanntlich herrschen gewisse regelmässige Beziehungen zwischen der Konstitution und dem Permeiervermögen verschiedener Stoffe (vgl. die Permeabilitätsregeln von OVERTON). So auch im untersuchten Falle. Die Diamine permeieren langsam, die Monoamine schnell. Das Permeiervermögen nimmt im allgemeinen mit der Anzahl der C-Atome im Molekül zu (als Abweichungen die ersten Glieder der homologen Reihen, Ammoniak, Methylamin und Hydrazin, die zu schnell permeieren), es vermindert sich aber, wenn Hydroxylgruppen in das Molekül eingeführt werden (Glucosamin). Die Konstitution wiederum bestimmt die physikalischen und physikochemischen Eigenschaften der Stoffe, von denen aber bekanntlich das Permeiervermögen hauptsächlich abhängig ist. Besondere Beachtung hat man der Molekül- oder besser gesagt der Teilchengrösse der Substanzen, ihrer Lipoidlöslichkeit sowie der Oberflächenaktivität geschenkt. Es war daher von Interesse, die Basen, deren Permeiervermögen im Vorhergehenden behandelt worden ist, in dieser Hinsicht zu untersuchen, um festzustellen, inwiefern sich Parallelen zwischen den physikochemischen Eigenschaften und dem Permeiervermögen der Basen ziehen liessen. Zuerst wird in aller Kürze die Bedeutung der Stärke der Basen für ihr Permeiervermögen behandelt.

1. *Die Stärke der untersuchten Basen.*

Aus den obigen Tabellen 5, 6, 8 und 9 geht ohne weiteres deutlich hervor, dass zwischen der Stärke der untersuchten Basen und deren Permeiervermögen kein durchgehender Parallelismus zu Tage tritt, sofern man, wie es in der vorliegenden Arbeit geschehen ist, beim Berechnen des Permeiervermögens der Basen allein den undissoziierten Anteil derselben berücksichtigt. Dieser Umstand verdient insofern Beachtung, als er beweist, dass die Basenkationen nicht zusammen mit den OH'-Ionen zu permeieren vermögen. Wäre dies nämlich der Fall, so wären die starken Basen im stande, die als Kriterien benutzten Farbenveränderungen verhältnismässig kräftiger hervorzurufen als die schwächeren, da die Kationenkonzentration der ersteren bei ein und demselben ph-Wert der Aussenlösung weit grösser als die der letzteren war.

2. *Die Teilchengrösse der untersuchten Basen in Wasserlösung.*

Die beim Auflösen schwacher Stickstoffbasen in Wasser vor sich gehenden Erscheinungen werden allgemein folgendermassen ausgedrückt (vgl. z. B. HANTZSCH 1899, BAARS 1927):

$$NR_3 + H_2O \rightleftarrows NR_3HOH \text{ und } NR_3HOH \rightleftarrows NR_3H^{\cdot} + OH'$$

Demzufolge wäre also die Base in Wasserlösung in folgenden drei Formen möglich: erstens als freies NR_3, zweitens als Monohydrat NR_3HOH (was eine wirkliche Hydroxylverbindung ist) und drittens als Ion $NR_3H^{\cdot}$. Die Base ist schwach, infolgedessen nur teilweise in Ionenform. Ausserdem kommen nach Baars z. B. vom Ammoniak eventuell noch die Formen $(NH_3)_2H_2O$ und $NH_3 . nH_2O$ (wo $n > 1$) in Betracht.

Den vorhin erörterten allgemeinen Prinzipien gemäss kommen im Zusammenhang mit vorliegender Untersuchung nur die undissoziierten Moleküle in Frage. Da diese nun nach dem oben Dargestellten in verschiedenen Formen in Wasserlösung vorkommen können, wäre es von Wichtigkeit festzustellen, wieviel es von einer jeden Form in der Lösung gibt. Die diese Frage behandelnden Untersuchungen (z. B. Baars l. c., daselbst weitere Literatur) zeigen jedoch, dass die Frage immer noch offen ist. Um nun die erforderlichen Zahlenwerte bezüglich der Molekülgrösse der Basen zu erhalten, ist es am geratensten, das bei Zimmertemperatur nur wenig beständige $(NR_3)_2H_2O$ sowie die gänzlich hypothetischen $NR_3.nH_2O$ ausser Acht zu lassen und neben dem freien Molekül NR_3 der Stickstoffbase in Wasserlösung das Monohydrat NR_3HOH anzunehmen und für dieses das Molekularvolumen zu berechnen. Das genaueste Mass für das Molekularvolumen dürfte die Molekularrefraktion sein (vgl. z. B. Collander 1926 und 1927). In Tabelle 10 sind die Molekularrefraktionen der untersuchten Basen sowohl für die Form NR_3 als für die Form NR_3HOH enthalten (für die Diamine das Dihydrat analog mit dem Dihydrochlorid), teils direkt nach Landolt-Börnstein (1923 S. 973—983, Tab. 182), teils aus den Atomrefraktionen berechnet mit Berücksichtigung der Spezialwerte der CH_2-Gruppe und der Doppelbindungen, für welche neuberechnete Atomrefraktionen benutzt wurden, mit Ausnahme der Atomrefraktion des Stickstoffs im Ammoniak und Hydrazin, welche früheren Bestimmungen entnommen wurde (l. c. Tab. 184 a).

Es sei noch ausdrücklich betont, dass diese Werte rein theoretisch sind und infolgedessen also nur ein approximatives Bild von der tatsächlichen Teilchengrösse der Basen in Wasserlösung geben. (Eine richtigere Auffassung von letzterer würde man sich wahrscheinlich mit Hilfe von Diffusionsversuchen bilden können.)

Die Konstitution des Cevadins ist unbekannt. Bei der Molekularrefraktionsberechnung desselben wurden seine Sauerstoffatome sämtlich als Hydroxylsauerstoff und der Stickstoff als tertiärer Aminstickstoff angenommen. Ungesättigte Ringe und andere Eigentümlichkeiten wurden bei der Berechnung selbstverständlich fortgelassen, daher der erhaltene Wert wahrscheinlich von dem wirklichen ziemlich stark abweicht. Jedenfalls ist er nicht zu hoch berechnet.

In Tabelle 10 steht in der Molekularrefraktionskolumne zuerst die Molekularrefraktion der Form NR_3 und hinter dieser der entsprechende Wert

Anordnung und Ausführung der Versuche.

Die Permeabilitätsversuche wurden im allgemeinen mit sehr verdünnten Lösungen vorgenommen (0.0002 —0.002-n). Um eine völlige Übereinstimmung zwischen den physiologischen Versuchen und den Lipoidlöslichkeitsbestimmungen zu erzielen, müssen letztere unter Anwendung ungefähr derselben Konzentrationen wie erstere ausgeführt werden. Um die oft sehr kleinen in die Ätherphase übertretenden Basenmengen unter Benutzung von gewöhnlichen Büretten bestimmen zu können, muss man stark verdünnte Titrierlösungen anwenden (ABDERHALDEN 1924, Abt. I, Teil 3, S. 306). Als Indikator wurde Methylrot gewählt, das hier am zweckmässigsten war, da es sich zur Titration solcher Basen eignet, deren $K_{BOH} > 10^{-6.4}$ ist, und da es der empfindlichste von allen in Frage kommenden Indikatoren ist. (In passender Konzentration angewandt, gibt das Methylrot bei Hinzufügung von 0.1 ccm einer 0.01-n Titriersäure oder Base einen deutlichen Farbenumschlag, vgl. KOLTHOFF 1923 S. 85 und 95). Als Titrierlösung wurden 0.01-n H_2SO_4 und NaOH genommen, die durch Verdünnung von 0.1-n Lösungen hergestellt wurden. 0.01-n H_2SO_4 wurde mit grösster Genauigkeit dargeste lt und die in jedem Versuche benutzte 0.01-n NaOH damit verglichen.

Beide Lösungen wurden in Kolben aus Jenaerglas aufbewahrt, die bereits längere Zeit im Gebrauch gewesen und durch Ausdampfen gereinigt worden waren. Es zeigte sich, dass 0.01-n H_2SO_4 ihren Titer wenigstens zwei Wochen unverändert behielt, während 0.01-n NaOH allmählich, wahrscheinlich infolge von CO_2-Absorption, immer schwächer wurde, so dass nach Ablauf von 3—4 Tagen ein Unterschied durch Titrieren bestimmt nachgewiesen werden konnte.

Die Genauigkeit der benutzten analytischen Methode ergibt sich aus folgendem: Es mögen die Äther- und Wasserphasen je 50 ccm betragen, und die ursprüngliche Aminkonzentration sei 0.001-n (also wie gewöhnlich bei den Permeabilitätsversuchen). Durch Schüttelung wird jetzt etwa die Hälfte des Amins in die Ätherphase übergeführt, so dass beim Gleichgewicht das Teilungsverhältnis Äther/Wasser = ca. 1 herrscht. Der Amingehalt der Ätherphase entspricht also 2.5 ccm 0.01-n Säure. Der Titrierfehler beträgt 0.05 ccm, also $\pm$ 2 %. Wäre wiederum die Aminkonzentration in der Ätherphase 0.0002-n — entweder infolge geringerer Ätherlöslichkeit oder geringerer ursprünglicher Konzentration in der Wasserphase —, so würde der Fehler bereits $\pm$ 5 % betragen usw. Man kann also — wenn nur die Ätherphase analysiert wird — nicht daran denken, wenig ätherlösliche Basen in so niederer Konzentration zu benutzen.

Um nun aber trotzdem mit Hilfe dieser Methode die Ätherlöslichkeit der verschiedenen Basen miteinander vergleichen zu können, wurde das Teilungsverhältnis bei mehreren verschiedenen Konzentrationen (0.1—0.0013-n) bestimmt, wobei sich gleichfalls herausstellte, dass ein Konzentrationswechsel keine im physiologischen Sinn wirkenden Fehler mit sich führte.

Der »Alkaloidfehler» des Methylrots (vgl. MICHAELIS und DERNBY 1922) ist unbekannt. Doch wurde der Fehler auch hier durch Bestimmung der Teilungsverhältnisse der Alkaloide in zwei verschiedenen Konzentrationen immerhin verringert.

Die auf Temperaturschwankungen (etwa zwischen 16° und 24° C) beruhenden Fehler schienen ebenfalls so unbedeutend zu sein, dass sie bei einem Vergleich der bei den Verteilungsbestimmungen erzielten Resultate mit den an lebenden Zellen gewonnenen Ergebnissen keinen Fehler im physiologischen Sinn verursachten.

Die Schüttelung wurde in einem Scheidetrichter vorgenommen, in welchen 50 ccm mit Äther gesättigtes Wasser sowie 50 ccm mit Wasser gesättigter Äther gebracht wurden. Die Wasserphase enthielt die zu untersuchende Base in der jeweils gewünschten Konzentration und ausserdem NaOH in einer Konzentration von entweder 0.1-n (ph = etwa 13) oder — wenn eine Zersetzung der Base möglich war (vgl. weiterhin) — 0,01-n (ph = etwa 12). Ausserdem wurde darauf geachtet, dass die Neutralsalzkonzentration der Wasserphase in sämtlichen Versuchen gleich gross war. Sie betrug 0.1-n NaCl oder, wenn es sich um Hydrazin handelte, 0,1-mol. Na_2SO_4 und bei Ammoniak in der zweiten Vergleichsserie 0.1-n Na_2SO_4.

Die Schüttelung dauerte in jedem Versuch 1′, nach deren Verlauf das Gleichgewicht sicher eingetreten war (nach HANTZSCH, l. c., ist in den von ihm benutzten Systemen das Gleichgewicht bereits nach 10″ hergestellt). Dann wurde das Wasser schnell abgelassen. Vermittels einer Pipette wurden von der Ätherphase nun schnell 45 ccm entnommen, wobei darauf geachtet wurde, dass die Pipettenspitze die Wandung des Scheidetrichters, an der sich möglicherweise Reste von der stark alkalischen Wasserphase befinden konnten, nicht berührte. Diese 45 ccm wurden in einen Kolben getan, der eine sorgfältig abgemessene Menge der mit dem betreffenden Indikator gefärbten 0,01-n H_2SO_4 enthielt. Besass die Base anfangs eine hohe Konzentration und war sie in reichlicher Menge in die Ätherphase übergetreten, so wurde 0.1-n H_2SO_4 angewandt. Nun wurde im geschlossenen Kolben die Ätherphase zusammen mit Schwefelsäure geschüttelt, infolgedessen die Base aus der Ätherphase in die Säurelösung unter Salzbildung überging. Das Methylrot wiederum ging in die Ätherphase über, diese gelb färbend, falls Schwefelsäure im Überschuss vorhanden war. Fand eine derartige Färbung nicht statt, so wurde die nötige Schwefelsäuremenge hinzugegeben. Nach Verjagen des Äthers auf dem Wasserbad wurde die zurückbleibende methylrothaltige Schwefelsäurelösung, in welcher also ein Teil der Säure an die ursprünglich in der Ätherphase befindliche Base gebunden war, mit 0.01-n NaOH, die ihrerseits wiederum eine genügende Menge Methylrot enthielt, titriert. Die Titration wurde unter Benutzung von Vergleichslösungen (ph 4.8, 5.0 und 5.2) auf ph = 5 bewerkstelligt (vgl. KOLTHOFF 1923). Da nun die anfangs mit 45 ccm aminhaltiger Ätherphase geschüttelte Menge H_2SO_4 bekannt ist, so ergibt diese Titration durch eine einfache Subtraktion diejenige H_2SO_4-Menge, welche an das in den 45 ccm der Ätherphase vorhanden gewesene Amin gebunden ist, und dadurch zugleich die entsprechende Aminmenge. Die gesamte Aminmenge der Ätherphase war folglich 50/45 der eben erhaltenen Menge.

Das Teilungsverhältnis ist gleich $\frac{\text{der in Äther übergegangene Teil}}{\text{der in Wasser verbliebene Teil}}$.

Fehlerquellen bei den Verteilungsbestimmungen.

Die grosse Flüchtigkeit des Äthers dürfte leicht Anlass zu ziemlich grossen Ungenauigkeiten geben (vgl. HANTZSCH 1899). Mit etwas Übung kann jedoch die Gesamtzeit der Schüttelung (bis zu dem Zeitpunkt, wo das Amin an die Schwefelsäure gebunden wurde) auf etwa 2.5—3′ reduziert werden. Da nun überdies die Scheidetrichter und H_2SO_4-Kolben geschlossen waren, die 45 ccm der Ätherphase direkt in die Schwefelsäure gegossen wurden und die meisten Basen ihrerseits auch einigermassen flüchtig waren, wodurch die Verflüch-

tigung des Äthers kompensiert wurde, so dürften sich die Fehler in physiologischer Hinsicht nicht allzu störend geltend machen. Bei Benutzung der allerkleinsten Konzentrationen der lipoidlöslichsten Basen (Alkaloide) hatte die Ätherverflüchtigung zur Folge, dass die in die Ätherphase übergegangene Gesamtmenge bisweilen sogar um eine Spur grösser als die ursprüngliche Menge in der Wasserphase gefunden wurde. Bei derartigen Versuchen war es daher unmöglich, für das Teilungsverhältnis irgendeinen bestimmten Zahlenwert zu erhalten, und darum ist denn auch in dergleichen Fällen in der Tabelle das Teilungsverhältnis mit > 12 bezeichnet.

Besondere Versuche zeigten, dass das Alkali der Wasserphase nicht in nennenswertem Masse in die Ätherphase übertrat, und ebenso, dass sich von der Wandung des Kolbens, in welchem die Schüttelung mit der Schwefelsäure und die Verdunstung des Äthers vor sich gingen, keine messbare Menge Alkali in die Säurelösung löste.

Das Ergebnis der Verteilungsbestimmungen.

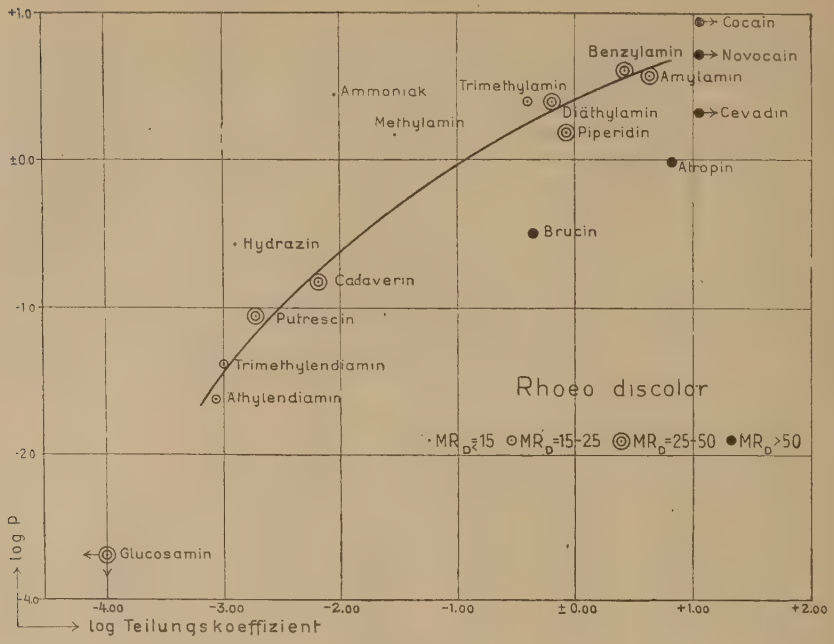
Die Resultate der Teilungsverhältnisbestimmungen sind in der Tabelle 11 enthalten, worin die Stoffe nach abnehmenden Teilungsverhältniswerten angeordnet sind. Die in der Tabelle angeführten ph-Werte beziehen sich selbstverständlich auf die Wasserphase. Desgleichen sind an den betreffenden Stellen der Tabelle in Kursivdruck einige der von COLLANDER und BÄRLUND untersuchten Nichtelektrolyte angeführt (vgl. unten). Man findet hier auch die P-Werte der Stoffe aus den *Rhoeo*- und *Tradescantia*-Versuchen nebst den Ordnungsbuchstaben der Basen aus der Tabelle der *Lemna*-Versuche.

Ein Blick auf die Tabelle — es sollen vorläufig nur die Basen beachtet werden — zeigt, dass zwischen Ätherlöslichkeit und Permeiervermögen im grossen und ganzen ein recht befriedigender Parallelismus besteht. Am besten dürfte die Abhängigkeit des Permeiervermögens von der relativen Ätherlöslichkeit und vom Molekularvolumen der betreffenden Basen durch eine graphische Darstellung dieser Grössen in Form der Figuren 6 und 7 veranschaulicht werden, woselbst als Ordinate die Logarithmen der P-Werte der Basen, als Abszisse die Logarithmen ihrer Teilungskoeffizienten erscheinen und in welchen die Basen je nach der Grösse ihrer Molekularrefraktion die in der Figur 6 angegebenen Zeichen erhalten. Ein Pfeil neben der Base gibt an, dass der in Frage stehende Ordinaten- oder Abszissenwert ein Grenzwert ist (Glucosamin und drei Alkaloide).

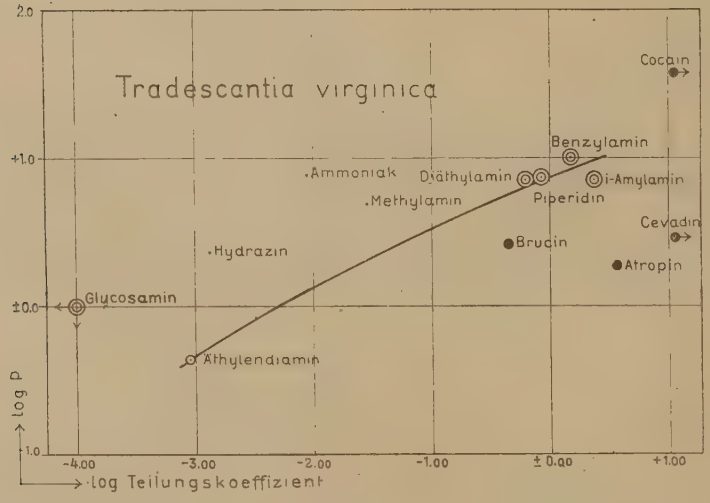
In der Figur 6, welche die diesbezüglichen Verhältnisse hinsichtlich *Rhoeo discolor* darstellt, wurde eine Linie durch die Zeichen der Basen gelegt, die den Parallelismus zwischen Ätherlöslichkeit und Permeiervermögen am deutlichsten zeigen. Oberhalb derselben befinden sich somit Basen, die schneller permeieren, als es ihrer Ätherlöslichkeit nach (verglichen mit der Ätherlös-

Tabelle 11.

Substanz	K_{BOH}	Anf.-Konz. in d. Wasserphase	ph	Temperatur	Teilungskoeffizient	ph	Temperatur	Teilungskoeffizient	Anf.-Konz. in d. Wasserphase	ph	Temperatur	Teilungskoeffizient	ph	Temperatur	Teilungskoeffizient	Mittlerer Teilungskoeffizient	*Rhoeo*	*Tradescantia*	*Lemna*
Novocain	$10^{-5.15}$	0.01	12	18°	> 12	12	17°	> 12	0.0013	12	20°	> 12	12	20°	> 12	> **12**	5.4	—	A_{II} ↑
Cevadin	$10^{-5.15}$	0.01	12	17°	13.4	12	17°	12.8	0.0013	12	19°	24.7	12	19°	17.0	> **12**	2.2	2.9	A_{II} ↑
Cocain	$10^{-5.59}$	0.01	12	20°	12.2	12	20°	12.6	0.0013	12	17°	> 12	12	24°	> 12	> **12**	9.0	38.0	A_{II} ↑
Atropin	$10^{-4.35}$	—	—	—	—	—	—	—	0.0013	12	24°	6.7	12	24°	5.9	**6.3**	1.0	1.9	A_{II}
i-Amylamin	$10^{-3.30}$	0.1	13	19°	3.1	13	20°	3.1	0.01	13	24°	3.6	13	24°	3.6				
		0.1	13	20°	3.1	—	—	—	0.0013	13	24°	5.7	13	24°	5.4	**4.2**	3.9	7.1	A_I
		—	—	—	—	—	—	—	0.0013	13	24°	6.2	—	—	—				
Benzylamin	$10^{-4.62}$	0.1	13	21°	2.8	13	21°	2.7	0.01	13	24°	2.4	13	24°	2.4				
		—	—	—	—	—	—	—	0.0013	13	24°	2.9	13	24°	2.9	**2.7**	4.2	10.5	A_I
Piperidin	$10^{-2.80}$	0.1	13	21°	0.8	13	21°	0.9	0.01	13	24°	0.8	13	25°	0.8				
		—	—	—	—	—	—	—	0.0013	13	25°	0.9	13	25°	0.8	**0.83**	1.6	7.3	A_I
Diäthylamin	$10^{-2.90}$	0.1	13	22°	0.8	13	22°	0.8	0.01	13	24°	0.53	13	24°	0.53				
		—	—	—	—	—	—	—	0.0013	13	24°	0.60	13	24°	0.56	**0.64**	2.5	7.2	A_I
Brucin	$10^{-6.04}$	0.0013	12	22°	0.38	12	22°	0.44	0.0013	12	22°	0.42	12	23°	0.48				
		0.0013	13	24°	0.49	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.44**	0.32	2.7	B ↑
Trimethylamin	$10^{-4.13}$	0.1	13	19°	0.39	13	19°	0.37	0.01	12	20°	0.39	12	20°	0.39				
		—	—	—	—	—	—	—	0.0013	12	18°	0.46	12	18°	0.42	**0.40**	2.5	—	A_I
Methylamin	$10^{-3.30}$	0.1	13	20°	0.026	13	20°	0.029	0.01	13	24°	0.055	13	24°	0.058	**0.042**	1.5	5.0	A_I
Monacetin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.041**	0.33	—	—
Dimethylharnstoff	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.011**	0.83	—	—
Ammoniak	$10^{-4.76}$	0.1	13	19°	0.0092	13	19°	0.0092	0.1	13	19°	0.0095	13	19°	0.0090				
		0.1	13	19°	0.0092	—	—	—	0.01	13	24°	0.0089	13	24°	0.0089	**0.0090**	2.8	7.6	A_I
Cadaverin	$10^{-3.13}$	0.1	13	15°	0.0064	13	18°	0.0069	—	—	—	—	—	—	—	**0.0067**	0.15	—	B
Acetamid	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.0025**	1.87	—	—
Putrescin	$10^{-3.29}$	0.1	13	16°	0.0019	13	19°	0.0019	—	—	—	—	—	—	—	**0.0019**	0.086	—	C
Hydrazin	$10^{-6.10}$	0.1	13	22°	0.0011	13	23°	0.0015	—	—	—	—	—	—	—	**0.0013**	0.27	2.3	B ↑
Methylharnstoff	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.0012**	0.18	—	—
Glycerin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.0011**	0.21	—	—
Trimethylendiamin	$10^{-3.46}$	0.1	13	20°	0.0010	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.0010**	0.041	—	C
Äthylendiamin	$10^{-4.07}$	0.1	13	23°	0.00085	13	23°	0.00085	—	—	—	—	—	—	—	**0.00085**	0.025	0.34	C
Harnstoff	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	**0.0005**	0.079	—	—
Glucosamin	$10^{-6.20}$	0.1	13	22°	≷ 0.0001	13	22°	≷ 0.0001	—	—	—	—	—	—	—	≷ **0.0001**	< 0.002	< 1.0	C ↑



Figur 6.



Figur 7.

lichkeit der übrigen untersuchten Basen) der Fall sein sollte. Das Ammoniak ist ganz entschieden eine solche Base, das Hydrazin und das Methylamin sind es in weniger ausgeprägtem Grade, aber immer noch ziemlich deutlich. Unterhalb der Linie bleiben wiederum die Basen, die, mit den übrigen untersuchten Basen verglichen, ein geringeres Permeiervermögen besitzen, als ihrer Ätherlöslichkeit nach zu erwarten war. Solche Basen sind zweifellos: Brucin, Atropin und Cevadin (eventuell auch noch Novocain und Cocain, deren Teilungsverhältnisse nicht genau zu bewerten waren), also mit anderen Worten die meisten oder möglicherweise sämtliche Alkaloide. Leider ist der Verlauf der Linie von Cadaverin zu Diäthylamin einigermassen unsicher, da es in der benutzten Basenauswahl zufällig nicht eine einzige gab, die auf diesen Teil der Linie gefallen wäre.

Wird in der Figur 7, die sich auf *Tradescantia virginica* bezieht, eine Linie durch ungefähr dieselben Basen wie in der *Rhoeo*-Darstellung gezogen (der Verlauf derselben ist dann infolge der wenigen untersuchten Basen nur ganz summarisch zu bestimmen), so treten ganz entsprechende Verhältnisse zu Tage: Ammoniak, Methylamin und Hydrazin sind auch hier im Verhältnis zu ihrer Ätherlöslichkeit zu rasch, die Alkaloide wiederum zu langsam permeierend (das Verhalten des Cocains verbleibt auch hier unaufgeklärt).

In beiden Fällen ist also sehr auffallend, dass die zu rasch permeierenden Basen solche sind, welche sich durch die allerkleinsten Molekularrefraktionswerte auszeichnen, während die zu langsam permeierenden Basen zu den extrem grossmolekularen gehören.

Ein Vergleich zwischen dem Permeiervermögen der untersuchten Basen und dem Permeiervermögen von Nichtelektrolyten ist — wenigstens theoretisch — dadurch möglich, dass das Permeieren der letzteren in die Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* mittels der plasmolytischen Methode untersucht worden ist (COLLANDER u. BÄRLUND 1926, BÄRLUND 1929). Die bei diesen Untersuchungen gefundenen Plasmolysekurven nähern sich in einigen Fällen den Diffusionskurven so weit, dass man auf Grund derselben die P-Werte der betreffenden Nichtelektrolyte berechnen kann. Dies gilt für Stoffe, die nicht besonders grossmolekular sind, nicht viel langsamer als Harnstoff und nicht rascher als Acetamid permeieren. An Hand des Gesagten kann man zum Vergleich z. B. folgende Nichtelektrolyte wählen: Harnstoff, Methylharnstoff, Glycerin, Monacetin, Dimethylharnstoff und Acetamid, für welche P-Werte aus den Plasmolysekurven in BÄRLUNDS Veröffentlichung (1929) berechnet sind (vgl. Tabelle 11).

Es muss jedoch besonders hervorgehoben werden, dass in der Praxis ein Vergleich des Permeiervermögens der untersuchten Basen und dieser Nichtelektrolyte mit Hilfe der aus den betreffenden Versuchen gewonnenen P-Werte leider recht grosse Schwierigkeiten mit sich bringt, die nicht nur daher rühren,

dass die für die Basen berechneten Werte stark approximativ sind, sondern auch daher, dass die angewandte kolorimetrische und die plasmolytische Methode von Grund aus verschieden sind. Dies letztere äussert sich hauptsächlich in folgenden Umständen:

a) Für die Basen wurden die P-Werte aus der Untersuchung der ersten Zellenreihe berechnet, Bärlund wiederum (l. c.) untersuchte stets drei Zellenreihen. Dieser Umstand erhöht die P-Werte der Basen im Vergleich zu den Werten der Nichtelektrolyte.

b) Die bei den mit Basen ausgeführten Versuchen stattfindende Speicherung sowohl in der ersten Epidermiszellenreihe wie in der darauffolgenden und auch in den Mesophyllzellen bewirkt, dass der ganze Diffusionsprozess in die erste Zellenreihe hinein in Wirklichkeit sehr kompliziert ist, und es ist schwer, genau zu sagen, in welcher Richtung dieser Umstand verändernd auf die P-Werte einwirkt. Eine entsprechende Erscheinung kommt natürlich bei Nichtelektrolyten — wegen fehlender Speicherung — gar nicht in Frage.

c) Der Einfluss der Zellmembran ist offenbar bei den plasmolytischen Versuchen ein anderer als bei den kolorimetrischen. Im ersteren Fall verzögert die Membran den Zutritt des permeierenden Stoffes zur Aussengrenze des Protoplasmas. Die Plasmolyse bleibt deswegen schwächer, die Permeation erscheint also eher rascher, als sie in Wirklichkeit ist. Im letzteren Fall hemmt natürlich die Membran ihrerseits das Eindringen des Stoffes in die Zellen und die Entstehung des Farbenumschlags, der als Kriterium der Permeation gilt, und dadurch werden die P-Werte kleiner, als sie wären, wenn es sich um das Permeieren nur durch das Plasma handelte.

d) Bei den kolorimetrischen Versuchen wurden die Lösungen dauernd geschüttelt, so dass keine bedeutenden Konzentrationsunterschiede zwischen den nahe der Zelle befindlichen Lösungsmassen und den entfernteren entstehen konnten. Bei den plasmolytischen Versuchen wurden die Lösungen dagegen nicht geschüttelt. Dieser Umstand vergrössert offenbar die P-Werte der Basen im Vergleich zu den entsprechenden Werten der Nichtelektrolyte.

e) Auf die P-Werte der Basen wirkt folgender Umstand reduzierend ein: beim Berechnen derselben galt immer als »Permeationszeit» diejenige Zeit, welche nötig ist, um den ph-Wert des Zellsaftes auf genau 8 zu erhöhen; doch steigt der ph-Wert des Zellsaftes häufig so schnell über 8 hinaus (zumal wenn die am raschesten permeierenden Basen in Betracht kommen), dass man den richtigen Zeitpunkt leicht verpasst, wodurch die Permeationszeit einen zu grossen Wert bekommt. Beim plasmolytischen Versuch tritt nichts Entsprechendes zu Tage.

Man sieht also, in beiden Methoden kommen sowohl die P-Werte vergrössernde wie auch verkleinernde Faktoren vor, und es ist nicht leicht zu sagen, welche Einflüsse überwiegen. Ein Vergleich zwischen dem Permeiervermögen

der Basen und demjenigen der Nichtelektrolyte wird unter diesen Umständen nur ganz annähernd ausfallen.

Nichtsdestoweniger darf wohl gesagt werden, dass der Parallelismus zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit recht befriedigend ist, auch wenn man die Nichtelektrolyte neben den untersuchten Basen betrachtet, und dass die grossmolekularen Alkaloide auch im Vergleich zu den mittels der plasmolytischen Methode untersuchten Nichtelektrolyten verhältnismässig schnell zu permeieren scheinen.

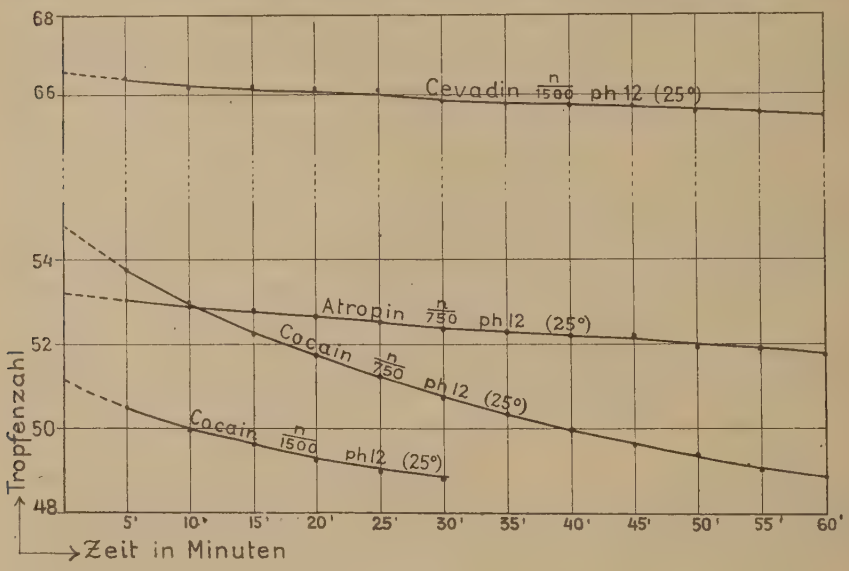
4. *Die Oberflächenaktivität der untersuchten Basen.*

Die Bestimmungen der Oberflächenaktivität der untersuchten Basen wurden vermittels der Tropfenzahlbestimmung mit einem Traube'schen Stalagmometer ausgeführt, dessen Tropfenzahl für destilliertes Wasser (bei 25° C) 47.21 beträgt.

Analog mit den Verteilungsversuchen wurden die Oberflächenspannungsversuche ebenfalls mit Lösungen ausgeführt, deren ph so hoch war, dass die zu untersuchende schwache Base in denselben so gut wie gänzlich undissoziiert war (vgl. weiter unten). Infolge dieser Anordnung gab es in der Lösung, deren Tropfenzahl bestimmt wurde, ausser der zu untersuchenden Base auch Neutralsalz (zumeist NaCl) und freies NaOH. Bei ph = 13 diente als Grundlösung 0.1-n NaCl+0.1-n NaOH, aber bei Hydrazin 0.2-n Na_2SO_4+0.1-n NaOH und bei Äthylendiamin II und anderen eigentlichen Diaminen 0.2-n NaCl+0.1-n NaOH. Bei ph = 12 wurde als Grundlösung $1.3 \cdot 10^{-3}$-n NaCl+0.01-n NaOH benutzt.

Für Stoffe mit starker Oberflächenaktivität wurde die Tropfenzahl bei einer Temperatur von 25° direkt als anschauliches Mass der Oberflächenaktivität angenommen. Dagegen näherte sich die Tropfenzahl der am wenigsten oberflächenaktiven Stoffe in so hohem Grade dem Tropfenzahlwert der betreffenden Grundlösung, welcher sich seinerseits wieder nur sehr wenig von dem Werte des reinen Wassers unterschied, dass es nicht leicht war, auf Grund der Tropfenzahl allein auf die Reihenfolge der Oberflächenaktivität zu schliessen, da das spezifische Gewicht der einzelnen Lösungen etwas wechselte. Es wurde deshalb die relative Oberflächenspannung dieser Lösungen, bezogen auf die Oberflächenspannung der betreffenden Grundlösung (ohne Zusatz der Stickstoffbase) als Einheit, gemäss der Formel $\gamma_1 = \frac{z \cdot s_1}{z_1 \cdot s}$ berechnet, in welcher z und s die Tropfenzahl und das spezifische Gewicht der Grundlösung, z_1 und s_1 dieselben Grössen der Grundlösung+Base bezeichnen. Da einzelne Basen (Alkaloide) sehr schwerlöslich sind, wurden die Bestimmungen nach Bedarf in mehreren Konzentrationen ausgeführt.

Bei gewissen Alkaloiden wurde *eine rasche Abnahme der Oberflächenaktivität*, also eine Verringerung der Tropfenzahl wahrgenommen, und zwar eine desto schnellere, je höher der ph-Wert der Lösung, in der die Bestimmung ausgeführt wurde, war. Am schnellsten war diese Veränderung beim Cocain, einigermassen rasch beim Atropin, kaum wahrnehmbar beim Cevadin. Beim Brucin und Novocain liess sich überhaupt keine Veränderung mehr bemerken. TRAUBE (1912) machte ähnliche Erfahrungen in bezug auf das Atropin, BERCZELLER und CSAKI (1913) sowie BERCZELLER und SEINER (1917) in bezug auf Atropin, Cocain und gewisse andere Alkaloide. Dieser Erscheinung zufolge ist es schwer, irgendwelche bestimmte Tropfenzahlwerte für Cocain und Atropin zu erhalten. Doch auch für sie konnte der ursprüngliche Wert der Oberflächenaktivität approximativ abgeschätzt werden, und zwar durch Bestimmung der



Figur 8.

Tropfenzahl alle 5 Minuten im Verlauf einer Stunde, wonach auf Grund der erhaltenen Werte eine Kurve gezeichnet wurde, die die zeitliche Veränderung der Tropfenzahl angibt und die dann approximativ so weit nach links verlängert wurde, bis sie die Ordinatenachse schnitt. Der Schnittpunkt bezeichnet dann ungefähr den Wert der ursprünglichen Tropfenzahl und gibt einen Begriff von der ursprünglichen Oberflächenaktivität des in Frage stehenden Alkaloids (Fig. 8).

Die in den Cevadin-, Cocain- und Atropinlösungen stattfindenden, die Oberflächenaktivität herabsetzenden Veränderungen erklären TRAUBE (1912) und mit ihm BERCZELLER und SEINER (1917) als von einer Verminderung des Dispersitätsgrades der freien Alkaloidbase herrührend. Wäre diese Erklärung, der sich auch MICHAELIS und DERNBY (1922) anzuschliessen scheinen, erschöpfend, so drängt sich die Frage auf, weshalb nicht auch das wenigstens ebenso typisch kolloidale Brucin (vgl. z. B. RUHLAND 1914) ein gleiches Verhalten an den Tag

legt. In der Tat dürfte eine ganz andere Erklärung zum mindesten den gleichen Anspruch auf Berechtigung erheben können: Cocain und Atropin — nicht aber Brucin (die Konstitution des Cevadins ist unbekannt) — sind beide esterartige Verbindungen, die in alkalischen Lösungen rasch verseift werden (vgl. KOLTHOFF 1925). Bei der Verseifung des Atropins entstehen Tropasäure und Tropin. Erstere ist bei dem benutzten hohen ph-Wert zum grössten Teil dissoziiert (vgl. LUNDÉN 1908), also in oberflächeninaktiver Form, dagegen ist die Tropinbase frei. Ihre Oberflächenaktivität ist zwar unbekannt, aber immerhin erscheint eine Herabsetzung der Oberflächenaktivität als Folge der Verseifung durchaus wahrscheinlich. Bei der Verseifung des Cocains wiederum entstehen Ekgonin, Benzoesäure und Methylalkohol, welche alle unter den in der Lösung obwaltenden Bedingungen wenig oder sogar sehr wenig oberflächenaktiv sind, so dass die Verseifung des Cocains die beobachtete starke Herabsetzung seiner Oberflächenaktivität durchaus befriedigend erklärt. Beim Cevadin finden allem Anschein nach entsprechende Veränderungen, wenn auch, nach der Veränderung der Oberflächenaktivität zu urteilen, in geringerem Massstabe statt. Dagegen scheint das Novocain, trotz seiner esterartigen Konstitution, sehr beständig zu sein.

Nun entsteht natürlich die Frage, inwieweit die Ergebnisse der vorhin beschriebenen Permeabilitätsversuche mit Atropin, Cocain (und Cevadin) durch den allmählich stattfindenden Zerfall dieser Basen beeinflusst worden sind. Dass dieser Einfluss relativ gering ist, scheint aus Serienversuchen hervorzugehen, in denen die Verminderung der Tropfenzahl (in % vom Anfangswert) in Lösungen der genannten Basen bei verschiedenen ph-Werten im Laufe einer Stunde bestimmt wurde. Bei ph = 12 war die Verminderung für Cocain 80 %, für Atropin 25 %, für Cevadin 3 % der möglichen Maximalverminderung (= Anfangswert minus Tropfenzahl der Grundlösung), bei ph = 9 für Cocain 7 %, für Atropin 3 %, bei ph = 8 wiederum für Cocain 2 %, für Atropin 2 %. Wenn die Versuche bei ph = 12 so lange (einige Tage) fortgesetzt wurden, dass das Gleichgewicht annähernd erreicht war, so betrug die Verminderung für Cocain 99 %, für Atropin 96 % und für Cevadin 97 %, also bedeutend mehr, als es bei den in den Permeabilitätsexperimenten angewandten ph-Werten der Fall war.

Bei den eigentlichen Aminen machte sich, wenn sehr viele Versuche nacheinander mit derselben Lösung ausgeführt wurden, auch eine kleine Verminderung der Tropfenzahl geltend. Die Ursache hierzu ist wohl teilweise in der Verflüchtigung des Amins, teilweise in der CO_2-Absorption zu suchen. In derartigen Fällen wurde stets auch der ursprüngliche Tropfenzahlwert abgeschätzt. Doch waren die Veränderungen immer nur sehr unansehnlich. Ernster konnte womöglich der Einwand sein, dass sich infolge der Flüchtigkeit einiger Basen keine richtige Gibbs'sche Oberflächenschicht an den Tropfen auszubilden vermochte, da die Versuche in offenem Gefäss stattfanden. Doch scheint der Umstand, dass der Oberflächenspannungswert für eine 0.1-m Ammoniaklösung (= 0.9960), der mit Hilfe der Ergebnisse von RICE (1928) berechnet werden kann, sogar grösser ist als der entsprechende Wert in der Tabelle 12, dafür zu sprechen, dass diese Fehlerquelle zu vernachlässigen ist.

In Tabelle 12 sind die Resultate sämtlicher Oberflächenspannungsmessungen zusammengestellt. Die Verbindungen sind darin nach abnehmender Oberflächenaktivität geordnet. Desgleichen finden sich hier die mittleren

Tabelle 12

Base	Tropfenzahlen					Relative Oberflächensp. (0.1-m Lösung)	Teilungskoeff. Äther/Wasser (Mittel)	*Rhoeo*	*Tradescantia*	*Lemna*
	ph ca.	0.1-m	0.04-m	$1.3 \cdot 10^{-3}$-m	$6.7 \cdot 10^{-4}$-m					
Cevadin	12	—	—	—	66.74	—	>12	2.2	2.9	A_{II} ↑
Cocain	12	—	—	54.80	51.16	—	>12	9.0	38.0	A_{II} ↑
Atropin	12	—	—	53.20	—	—	6.3	1.0	1.9	A_{II}
Novocain	12	—	—	50.79	49.11	—	>12	5.4	—	A_{II} ↑
Brucin	13	—	—	48.56	—	—	0.44	0.32	2.7	B ↑
i-Amylamin	13	76.45	63.39	48.09	—	—	4.2	3.9	7.1	A_I
Benzylamin	13	—	56.66	47.57	—	—	2.7	4.2	10.5	A_I
Diäthylamin	13	56.85	51.93	—	—	—	0.64	2.5	7.2	A_I
Piperidin	13	56.19	51.51	—	—	—	0.83	1.6	7.3	A_I
Trimethylamin	13	55.38	51.49	—	—	—	0.40	2.5	—	A_I
Cadaverin	13	54.17	—	—	—	0.9263	0.0067	0.15	—	B
Putrescin	13	48.72	—	—	—	0.9720	0.0019	0.086	—	C
Methylamin	13	48.22	—	—	—	0.9819	0.042	1.5	5.0	A_I
Trimethylendiamin	13	48.02	—	—	—	0.9872	0.0010	0.041	—	C
Ammoniak	13	47.80	—	—	—	0.9905	0.0090	2.8	7.6	A_I
Äthylendiamin I	13	47.56	—	—	—	0.9958	0.00085	0.025	0.34	C
Äthylendiamin II	13	47.64	—	—	—	0.9953	0.0001	0.002	1.0	C ↑
Glucosamin	13	47.60	—	—	—	1.00005	0.0013	0.27	2.3	B ↑
Hydrazin	13	47.68	—	—	—	1.00015				

Teilungsverhältniswerte für das System Äther/Wasser sowie die in den Versuchen mit *Rhoeo* und *Tradescantia* bestimmten P-Werte der Basen nebst den Ordnungsbuchstaben aus den Versuchen mit *Lemna*. Dagegen wurden die im vorigen behandelten Nichtelektrolyte nicht mitaufgenommen, da es auf Grund der zur Verfügung stehenden Werte mit Schwierigkeit verbunden sein dürfte, ihren Platz in der Oberflächenaktivitätsserie der Basen zu bestimmen (vgl. COLLANDER und BÄRLUND 1926, S. 10).

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Oberflächenaktivität der Basen im grossen und ganzen ihrer Ätherlöslichkeit parallel variiert. Hieraus folgt, dass, obwohl ein unverkennbarer Parallelismus zwischen Oberflächenaktivität und Permeiervermögen zu konstatieren ist, sich doch die gleichen Unstimmigkeiten, die zwischen Permeiervermögen und relativer Ätherlöslichkeit vorhanden sind, auch geltend machen, wenn man das Permeiervermögen mit der Oberflächenaktivität vergleicht, ja es hat sogar den Anschein, als wären die Widersprüche im letzteren Falle noch schärfer. So befinden sich beispielsweise Methylamin, Ammoniak und Hydrazin in der Oberflächenaktivitätsserie in noch ungünstigerer Stellung als in der Teilungsverhältnisserie. Ferner scheint die Oberflächenaktivität des stark lipoidlöslichen, im Verhältnis zu ihr etwas zu langsam permeierenden Cevadins, Atropins und Brucins, speziell des Atropins und Brucins, relativ noch grösser zu sein als ihre Ätherlöslichkeit, so dass auch in bezug auf diese Verbindungen der Widerspruch noch mehr zu Tage tritt, wenn man statt der Ätherlöslichkeit die Oberflächenaktivität mit dem Permeiervermögen vergleicht.

V. Die wichtigsten Permeabilitätshypothesen im Lichte der dargelegten Tatsachen.

Die geschilderten Tatsachen ermöglichen jetzt in gewissem Masse eine Stellungnahme in der Frage, inwieweit die wichtigsten Permeabilitätshypothesen für die Erklärung der Permeation der untersuchten schwachen Basen Geltung haben.

Dass keine allgemeinen Beziehungen zwischen dem Molekularvolumen und dem Permeiervermögen der Basen erkennbar sind, beweist klar, dass die *Ultrafilterhypothese* RUHLAND'S jedenfalls nicht allein die beobachteten Erscheinungen zu erklären vermag.

Angesichts des ausgesprochenen Parallelismus zwischen dem Permeiervermögen einerseits und sowohl der Ätherlöslichkeit wie der Oberflächenaktivität der Basen andererseits ist es wahrscheinlich, dass im Plasma der untersuchten lebenden Zellen entweder Stoffe vorhanden sind, deren Lösungs-

eigenschaften an die entsprechenden Eigenschaften von Äther erinnern oder aber, dass die Permeation von Oberflächenkräften beherrscht wird (eventuell wirken auch beide Umstände zusammen). Im ersteren Fall gelangt man zu OVERTON's *Lipoidhypothese*, im letzteren dagegen zu der *Adsorptionshypothese*.

Irgendwelche direkte Beobachtungen darüber, welcher von diesen beiden Hypothesen der Vorzug zu geben ist, hat die vorliegende Untersuchung nicht erbracht. Die Adsorptionshypothese verliert jedoch durch den Umstand an Wahrscheinlichkeit, dass das Permeieren von Stoffen durch alle bisher untersuchten künstlichen lipoidfreien Membranen von der Oberflächenaktivität der diffundierenden Stoffe nahezu unabhängig gewesen ist (vgl. COLLANDER 1924—1927).

Die Lipoidhypothese scheint also in dem Sinn, dass im Zellplasma ein seiner Lösungsfähigkeit nach dem Äther ähnlicher Stoff vorhanden ist, von den bisher genannten Permeabilitätshypothesen am besten die beobachteten Erscheinungen zu erklären. Doch gilt der Parallelismus zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit nur mit mehreren ziemlich beträchtlichen Abweichungen (vgl. Tabelle 11, S. 83 und Fig. 6 und 7). Die Abweichungen hinsichtlich der sehr grossen Moleküle kann man jedoch wohl auch — unter unveränderter Aufrechterhaltung der Lipoidhypothese — auf ziemlich natürliche Weise erklären: Ihr Eindringen in die Zelle dürfte verhältnismässig am meisten durch die Zellmembran verlangsamt werden, welche vielleicht gegenüber dem Permeieren von Stoffen nicht so passiv ist, wie man früher annahm (vgl. z. B. STILES 1921—23). Ferner ist aller Wahrscheinlichkeit nach die Diffusibilität der grossmolekularen Stoffe auch im Plasma selber (auf welcher Eigenschaft, nach der Lipoidhypothese, die Permeiergeschwindigkeit neben dem Teilungsverhältnis beruht) verhältnismässig gering, denn die bekannten Diffusionsgleichungen von EINSTEIN und SUTHERLAND setzen ja voraus, dass die Diffusionsgeschwindigkeit ganz allgemein (nicht nur in Wasser) dem Molekülradius des diffundierenden Stoffes umgekehrt proportional sei.

Die Abweichungen hinsichtlich der besonders kleinmolekularen Basen bleiben dagegen, wenn man sich nur an die ursprüngliche Lipoidhypothese hält, ohne natürliche Erklärung. Denn es ist nicht anzunehmen, dass die Membran, welche sogar die Riesenmoleküle des Cevadins passieren lässt, eine ausgeprägte Siebwirkung gegenüber so viel kleineren Molekülen entfaltet. Ausserdem sind ja wenigstens innerhalb der untersuchten Basenauswahl keine Zeichen davon zu erkennen, dass etwa Verbindungen, deren MR_D 15—25 beträgt, leichter permeieren würden als solche, bei denen MR_D zwischen 25 und 50 liegt. Vielmehr permeieren, wie aus Figur 6 und 7 ersichtlich, nur diejenigen Basen, deren MR_D unterhalb etwa 15 liegt, deutlich schneller, als ihrer Ätherlöslichkeit nach zu erwarten wäre. Auch die grössere Diffusibilität kleiner

Moleküle dürfte nicht entfernt genügen, um das im Vergleich zu ihrer Ätherlöslichkeit entschieden viel zu grosse Permeiervermögen des Ammoniaks und des Hydrazins zu erklären.

Alle diese Umstände legen den Gedanken nahe, dass doch irgendein *Filtereinfluss* im Plasma neben der Lipoidlöslichkeit in Frage kommen könnte.

Eine derartige Ansicht hat im Zusammenhang mit Permeabilitätsvorgängen schon Pfeffer (1877) besonders klar entwickelt, indem er die Diffusion von Stoffen durch die von ihm studierten Niederschlagsmembranen aufhellte. Von letzteren nahm Pfeffer an, dass sie sich aus Kolloidpartikeln (Tagmen) zusammensetzen, zwischen denen mit Wasser gefüllte Interstitien sind. Der Stoff kann nun entweder durch die Tagmen permeieren, indem er sich in sie auflöst (oder sich chemisch mit ihnen verbindet), oder durch die dazwischen befindlichen Interstitien. Der letztgenannte Weg steht solchen sich nicht in den Tagmen lösenden Stoffen offen, deren Teilchen so klein sind, dass sie die Interstitien zu passieren vermögen. Dabei ist zu bemerken, dass die Membran diesen Stoffen gegenüber nicht ausschliesslich als mechanisches Molekülsieb zu fungieren braucht, sondern auch die Adsorptionskräfte müssen in Erwägung gezogen werden. Sofern der permeierende Stoff negativ adsorbierbar ist, steht nach Pfeffer nur der von Adsorptionskräften freie mittlere Teil der Interstitien zu seiner Verfügung. (Liegt die ganze Öffnung im Bereich der Adsorptionskräfte, dann gelangt ein solcher Stoff gar nicht zum Permeieren, wenn auch seine Partikel sonst die Interstitien passieren könnten.) Negativ adsorbierten Stoffen gegenüber fungiert die Membran mithin als ein dichteres Molekülsieb als Stoffen gegenüber, die nicht negativ adsorbiert werden, da ja den letztgenannten die ganze Interstitienöffnung zur Verfügung steht.

Später ist die Struktur der Niederschlagsmembranen und auch vieler anderer künstlicher Membranen tatsächlich als ein der Pfeffer'schen Hypothese entsprechendes Kolloidgel festgestellt worden (vgl. Michaelis 1926), und die rein theoretisch darauf angewandte Permeabilitätserklärung hat dadurch eine Bestätigung gefunden. In den bisher auf ihre Permeabilitätseigenschaften hin untersuchten künstlichen Membranen (vgl. Collander, l. c.) bilden den Permeationsweg der Stoffe fast ausschliesslich die zwischen den Kolloidteilchen befindlichen, wassergefüllten Interstitien, und ihre Permeabilitätseigenschaften weichen entschieden von den entsprechenden Eigenschaften des lebenden Plasmas ab. Künstliche Lipoidmembranen sind nicht näher untersucht worden, so dass über ihre Permeabilität nur Vermutungen ausgesprochen werden können. Lipoidlösliche Stoffe lassen sie vermutlich durch, parallel mit deren Lipoidlöslichkeit und Diffusibilität im Lipoid selber, und falls sie ähnliche poröse Kolloidgele sind wie die obenerwähnten Membranen, lassen sie sicher auch lipoidunlösliche Stoffe durch.

Ähnliche Anschauungen enthält auch NATHANSOHN's unter dem Namen »*Mosaikhypothese*» auftretende Hypothese von der Permeabilität der lebenden Zelle, wenn auch in ziemlich unbestimmter Form.

Pfeffer's Ansicht ist auf die lebende Zelle präzis zum erstenmal von COLLANDER (1925, vgl. auch COLLANDER und BÄRLUND 1926) angewandt worden, der damit den Grund zu einer Permeabilitätshypothese legte, die eine Kombination der Lipoidlöslichkeits- und der Ultrafilterhypothese darstellt. Um einen kurzen bequemen Namen für diese Auffassung von dem Permeabilitätsmechanismus der lebenden Zellen zu haben, möge dafür der Name *Lipoidfilterhypothese* vorgeschlagen werden, wobei allerdings ausdrücklich zu betonen ist, dass dieser Name nicht ausdrücken soll, dass die eigentlichen Porenwände des betreffenden Ultrafilters aus Lipoiden bestehen müssen. (Die schönen Untersuchungen von MOND (1928) deuten ja im Gegenteil darauf hin, dass die Porenwände der Plasmahaut aus Eiweissstoffen bestehen, während der lipoide Anteil der Plasmahaut keine für die Permeation in Betracht kommenden Poren enthält.)

Das Protoplasma (nebst den Plasmahäuten) ist der heutigen Auffassung nach ein kolloides System, dessen Struktur jedoch im Einzelnen unbekannt ist. Jedenfalls scheint es sicher, dass eine Phase desselben Wasser ist, eine wiederum die komplizierten Plasmabestandteile, von denen also im Permeiermechanismus, nach dem Obigen, die wichtigsten offenbar die Lipoide sind. Denkt man sich die Zusammensetzung des Plasmas so, dann können also, sofern Pfeffer's Gedankengang auf den Permeationsprozess anwendbar ist, die lipoidlöslichen Stoffe fast unabhängig von der Grösse ihrer Teilchen durch das Plasma permeieren, parallel ihrem Teilungsverhältnis im System Lipoid-Wasser (die allerkleinsten lipoidlöslichen Moleküle wohl auch rascher, als ihr Teilungsverhältnis anzeigt, da sie sowohl den Wasser-, wie den Lipoidweg benutzen können). Die Permeation lipoidunlöslicher Stoffe hingegen wird durch ihre Teilchengrösse in der Lösung und durch die Porengrösse des betreffenden Plasmas bestimmt, wobei auch die Adsorptionskräfte in Frage kommen können.

Die Lipoidfilterhypothese scheint nun tatsächlich sämtliche in der vorliegenden Arbeit geschilderte Permeabilitätserscheinungen zwanglos erklären zu können. Dies gilt insbesondere auch für das im Vergleich zu ihrer Ätherlöslichkeit zu grosse Permeiervermögen der untersuchten extrem kleinmolekularen Basen, nämlich des Ammoniaks, Methylamins und Hydrazins, ebenso wie sie das rasche Permeieren des sehr wenig lipoidlöslichen Wassers (vgl. OVERTON) und auch des Sauerstoffs (HARVEY 1922) erklärt. Auch hat sie sich ja bei der Deutung der Ergebnisse einiger während der allerletzten Zeit ausgeführten Permeabilitätsuntersuchungen als sehr fruchtbar erwiesen (MOND 1928 und BÄRLUND 1929).

Zum Schluss sei nochmals auf eine interessante Feststellung hingewiesen, die schon vorhin beiläufig erwähnt wurde. Was *Rhoeo discolor* anbetrifft, ist der das Permeiervermögen vergrössernde Einfluss des kleinen Molekularvolumens in bezug auf Äthylendiamin (MR_D = 18.2—25.7) noch gar nicht merkbar, trotzdem er bei Hydrazin (MR_D = 9.4—16.8) bereits sehr deutlich ist. Dies deutet offenbar darauf hin, dass der effektive Porendurchmesser im Plasma von *Rhoeo discolor* ungefähr zwischen den Moleküldurchmesserwerten von Äthylendiamin und Hydrazin liegt, entsprechend etwa dem Moleküldurchmesser eines Stoffes, dessen MR_D annähernd 15 ist. Dieses Ergebnis stimmt unerwartet gut mit BÄRLUND's (1929) Beobachtungen über die Permeabilität der Epidermiszellen von *Rhoeo* für Nichtelektrolyte überein und bestätigt somit — da der letztere Forscher eine ganz andere Methode, nämlich die plasmolytische, anwandte — in sehr willkommener Weise die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, deren Methodik leider nicht so exakt ist, wie es wünschenswert gewesen wäre. —

Nicht ohne Interesse ist es endlich, zu untersuchen, wieweit die Lipoidfilterhypothese mit den im geschichtlichen Teil dieser Arbeit erwähnten, mehr oder weniger qualitativen Ergebnissen früherer Forscher übereinstimmt. Es kommen dabei offenbar nur OVERTON's, HARVEY's und WERTHEIMER's Veröffentlichungen in Frage.

Nach OVERTON's Ergebnissen waren Lipoidlöslichkeit und Permeiervermögen im allgemeinen für die untersuchten Basen parallel (Monoamine und Alkaloide permeieren rasch, Diamine langsam). Aber zum mindesten eine Base, welche trotz ihrer geringen Lipoidlöslichkeit dennoch rasch permeiert, nämlich Ammoniak, hat er untersucht. Über ihr Permeiervermögen im Vergleich zu anderen Basen finden sich jedoch keine genauen Angaben in Overton's Schriften, so dass es unbekannt bleibt, ob auch er bemerkt hat, dass das Ammoniak eine Ausnahme von seiner allgemeinen Permeationsregel bildet.

Unter HARVEY's Ergebnissen liefern nur die *Elodea*-Versuche die deutliche Permeationsreihenfolge: $NH_3 > CH_3NH_2 > (CH_3)_2NH$, die offenbar vollkommen zu der Lipoidfilterhypothese stimmt, aber vom Standpunkt der reinen Lipoidlöslichkeitshypothese aus ganz unverständlich sein würde.

WERTHEIMER's Ergebnis, dass die Permeationsreihenfolge hinsichtlich der Froschhaut NH_3 > Trimethylamin > Dimethylamin ist, scheint ebenfalls erst durch die Lipoidfilterhypothese eine befriedigende Erklärung zu finden.

Man sieht also, dass die Ergebnisse der älteren Permeabilitätsuntersuchungen mit Stickstoffbasen — trotz ihrer Unbestimmtheit und Ungenauigkeit — doch auch ihrerseits eine gewisse Bestätigung für die Lipoidfilterhypothese zu erbringen scheinen.

VI. Ausblicke.

Es ist bereits mehrmals betont worden, dass die Auswahl der in der vorliegenden Arbeit geprüften Basen nicht so gross und mannigfaltig gewesen ist, wie es wünschenswert gewesen wäre, um wirklich bindende theoretische Schlussfolgerungen ziehen zu können. Vor allem wäre es wünschenswert, erstens Untersuchungen mit Basen anzustellen, welche die zwischen Cadaverin und Diäthylamin bestehende Lücke in der graphischen Darstellung Figur 6 ausfüllen würden, sowie zweitens noch weitere ganz kleinmolekulare Basen zu untersuchen, um die Ultrafilterwirkung des Plasmas an der Hand zahlreicherer Beispiele zu prüfen. (Hydroxylamin konnte mittels der hier angewandten Methode nicht geprüft werden, weil seine Dissoziationskonstante zu klein, etwa $10^{-7{\cdot}8}$, ist und weil es ausserdem auf Anthocyan entfärbend wirkt.)

Es ist auch mehrfach hervorgehoben worden, dass die mit der angewandten kolorimetrischen Methode verknüpften grossen Fehlerquellen sie für quantitative Arbeiten weniger geeignet machen. Man kann sich deshalb mit gutem Grund fragen, ob keine Möglichkeiten bestehen, zur Untersuchung von schwachen Basen genauere Methoden anzuwenden.

Eine Möglichkeit hierzu bieten offenbar die grossen Zellen von *Valonia* und verschiedenen Characeen, welche eine viel genauere Bestimmung des ph-Wertes ihres Zellsaftes erlauben, als es etwa bei *Rhoeo* oder *Tradescantia* der Fall war.

Eine zweite Möglichkeit zur Bestimmung der Permeabilität schwacher Basen bietet die Niederschlagsmethode Overton's, die sich offenbar quantitativ weiter ausbilden lässt, — ob mit gutem Erfolg in der Praxis, darüber kann man natürlich nur durch Experimente Klarheit erlangen. Da das Berechnen der P-Werte wiederum als Hauptzweck der Versuche anzusehen ist, muss man zu ihrer Bestimmung das mittlere Diffusionsgefälle und die im Untersuchungsaugenblick in der Zelle befindliche Totalmenge der zu untersuchenden Base kennen. Um ersteres zu erhalten, muss man die [BOH] in der Aussenlösung und dem Zellsaft im Untersuchungsaugenblick kennen. Dies wird möglich durch Bestimmen desjenigen kleinsten [BOH]-Wertes der Aussenlösung, welcher die Verhältnisse des Untersuchungsaugenblicks im Zellinnern eben noch zustande bringen kann. Die intrazellulare Totalmenge lässt sich, wenn auf irgendeine Weise (z. B. mittels der Indikatormethode) das ph im Zellsaft im Untersuchungsaugenblick bestimmt worden ist, mit Hilfe der Dissoziationskonstante der Base, des genannten ph-Wertes sowie des vorher bestimmten intrazellularen [BOH]-Wertes berechnen. Die Totalkonzentration extrem schwacher Basen lässt sich jedoch bestimmen, ohne dass man das ph im Zellinnern kennt, da solche (z. B. Coffein) bei allen ph-Werten, die bei dieser Art von Versuchen in Frage kommen, als praktisch gänzlich undissoziiert anzusehen sind.

Für Farbstoffe — sofern sie schwache Elektrolyte sind, wie die meisten Basenfarben und von Säurefarben die Carbonsäuren — eignen sich offenbar bei der Untersuchung ihres Permeiervermögens dieselben allgemeinen Grundsätze wie für die farblosen schwachen Elektrolyte. Die erste grundlegende Aufgabe ist, sich über das relative Permeiervermögen ihrer Ionen, verglichen mit demjenigen ihrer undissoziierten Moleküle, zu unterrichten, worüber bisher nicht genügend experimentelle Angaben vorliegen. Liegt die Sache nun so — wie es nach den Untersuchungen von z. B. HARVEY (1911), MC CUTCHEON und LUCKE (1924), IRWIN (1926 und 1928) der Fall zu sein scheint —, dass das Permeiervermögen der Ionen auch bei den Farbstoffen, die schwache Elektrolyte sind, im Vergleich zum Permeiervermögen der undissoziierten Moleküle verschwindend klein ist, so sind die in dieser Schrift entwickelten Gesichtspunkte wohl ohne weiteres auf sie anwendbar.

Zusammenfassung.

In vorliegender Untersuchung wurden als lebende Objekte die Epidermiszellen der Blattunterseite von *Rhoeo* (*Tradescantia*) *discolor*, Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* und Wurzeln von *Lemna minor*, als permeierende Stoffe farblose, schwache Stickstoffbasen benutzt. Als Kriterium des Eindringens der Basen diente der Farbenumschlag des Anthocyans bzw. bei *Lemna* die Entfärbung der vorher mit Neutralrot gefärbten Zellen.

Als möglichst genaues und allgemein gültiges Mass des Permeiervermögens der Basen wurde die mit P bezeichnete Permeationskonstante benutzt, deren Wert sich berechnen lässt aus der approximativen Formel

$$P = \frac{x}{t} \cdot \frac{1}{\text{mittl. Diff.-Gefälle}},$$

worin x die in der Zeit t in die Zelle eingedrungene Basenmenge bezeichnet.

Beim Berechnen der Grösse des Diffusionsgefälles ist nur die Konzentration der undissoziierten Basenmoleküle in der Aussenlösung und im Zellsaft zu berücksichtigen, da es sich zeigt, dass die Basenkationen nicht merkbar zusammen mit OH'-Ionen in die Zellen eindringen.

Das Eindringen der undissoziierten Basenmoleküle scheint ungefähr in Übereinstimmung mit dem Fick'schen Diffusionsgesetz vor sich zu gehen.

Es wurde der Parallelismus zwischen dem Permeiervermögen der Basen und einigen physikochemischen Eigenschaften derselben untersucht. Irgendein ausgesprochener Parallelismus zwischen dem Permeiervermögen einerseits und der Teilchengrösse der Basen in wässeriger Lösung andererseits war nicht zu bemerken. So erwiesen sich z. B. in Übereinstimmung mit OVERTON's

Angaben die Alkaloide als relativ schnell permeierend. Ein unverkennbarer Parallelismus bestand dagegen zwischen dem Permeiervermögen einerseits und der Oberflächenaktivität und in noch höherem Grade der relativen Ätherlöslichkeit andererseits. (Die Beziehungen zwischen P-Wert, Ätherlöslichkeit und Molekulargrösse sind in den Figuren auf S. 84 übersichtlich dargestellt.) Die letztgenannte Tatsache weist auf die Anwendbarkeit der Lipoidhypothese als Erklärung der beobachteten Permeationserscheinungen hin.

Ausnahmen von dem beobachteten Parallelismus zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit bilden einerseits die sehr grossmolekularen Alkaloide, die etwas zu langsam permeieren. Diese Ausnahme kann wohl in ungezwungener Weise aus dem diffusionshemmenden Einfluss der Zellmembran und der geringen Diffusibilität der genannten Basen in den mutmasslichen Plasmalipoiden erklärt werden.

Andererseits permeieren die extrem kleinmolekularen Basen (Ammoniak, Methylamin und Hydrazin) beträchtlich schneller als auf Grund des allgemeinen Parallelismus zwischen Ätherlöslichkeit und Permeiervermögen anzunehmen wäre. Zur Aufklärung der letzteren Ausnahme genügt allem Anschein nach die ursprüngliche Lipoidlöslichkeitshypothese Overton's nicht allein. Dagegen scheint eine Kombination der Lipoidhypothese und der Ultrafilterhypothese alle beobachteten Erscheinungen in natürlichster Weise zu erklären.

Nebenbei wurde eine grob approximative Bestimmung des P-Wertes der Kohlensäure ausgeführt. Danach permeiert die Kohlensäure, bzw. das Kohlendioxyd, etwa ebenso leicht oder ein wenig schwerer als Ammoniak in die Epidermiszellen von *Rhoeo.*

Die vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität Helsinki ausgeführt, dessen früheren und jetzigen Vorständen, Herrn Professor Dr. Fredr. Elfving und Herrn Professor Dr. K. Linkola, der Verfasser seinen ergebensten Dank ausspricht. Ebenso dankt der Verf. Herrn Dozenten Dr. Runar Collander, der die Untersuchung angeregt hat, für seine stete Hilfsbereitschaft und seine Kritik während der Arbeit.

Zitierte Literatur.

ABDERHALDEN, E., 1924, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. II Aufl. Wien.

BAARS, E., 1927, Über den Zustand des Ammoniaks in wässriger Lösung. Sonderausg. aus d. Samml. chem. u. chem.-techn. Vorträge. Bd. XXIX. Stuttgart.

BÄRLUND, HUGO, 1929, Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. Erscheint in Acta Botanica Fennica.

BENECKE-JOST, 1924, Pflanzenphysiologie. 4. Auflage. Jena.

BERCZELLER, L. und CSAKI, L., 1913, Stalagmometrische Studien an kolloiden und kristalloiden Lösungen (III Mitteilung). Biochem. Zeitschr. *53*, 238—242.

BERCZELLER L. und SEINER M., 1917, Über die Oberflächenspannung von Alkaloidlösungen. Ibid., *84*, 80—105.

BETHE, ALBRECHT, 1909, Die Bedeutung der Elektrolyten für die rhytmischen Bewegungen der Medusen. Pflügers Archiv *127*, 219—273.

BORESCH, KARL, 1919, Über den Eintritt und die emulgierende Wirkung verschiedener Stoffe in Blattzellen von *Fontinalis antipyretica*. Biochem. Zeitschr. *101*, 110—158.

BORNSTEIN, A. und RÜTER, E., 1925, Über den Einfluss von Alkaloiden und Salzen auf die Vitalfärbung. I Mitteilung. Pflügers Archiv *207*, 596—613.

BREDIG, G., 1894, Über die Affinitätsgrössen der Basen. Zeitschr. f. physik. Chem. *13*, 289—326.

BRENNER, WIDAR, 1918, Studien über die Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen. Öfvers. af Finsk. Vet. Soc. Förh. Bd. LX Afd. A, N:o 4.

CLARK, W. MANSFIELD, 1923, The determination of hydrogen ions. Second Edit. Baltimore.

COLLANDER, RUNAR, 1924, Über die Durchlässigkeit der Kupferferrozyanidniederschlagsmembran für Nichtelektrolyte. Kolloidchem. Beihefte *19*, 72—105.

—»— 1925, Über die Durchlässigkeit der Kupferferrozyanidmembran für Säuren nebst Bemerkungen zur Ultrafilterfunktion des Protoplasmas. Ibid., *20*, 273—287.

—»— 1926, Über die Permeabilität von Kollodiummembranen. Soc. Scient. Fennica, Comment. Biol. II, 6, 1—45.

—»— 1927, Einige Permeabilitätsversuche mit Gelatinemembranen. Protoplasma *3*, 213—222.

COLLANDER, RUNAR und BÄRLUND, H., 1926, Über die Protoplasmapermeabilität von *Rhoeo discolor*. Soc. Scient. Fennica, Comment. Biol. II, 9, 1—13.

DARWIN, CHARLES, 1875, Insectivorous plants. London.

Ege, Richard, 1922, Untersuchungen über die Permeabilität des Blutkörperchenhäutchens für Elektrolyte. IV Mitteilung. Biochem. Zeitschr. *130*, 116—131.

Fischer, E. und Koch, H., 1884, Ueber Trimethylendiamin. Ber. d. deutsch. chem. Ges. *17*, 1799—1801.

Grafe, Eduard, 1912, Über die Wirkung von Ammoniak und Ammoniakderivaten auf die Oxydationsprozesse in Zellen. Zeitschr. f. physiol. Chem. *79*, 421—438.

Gryns, G., 1896, Ueber den Einfluss gelöster Stoffe auf die rothen Blutzellen, in Verbindung mit den Erscheinungen der Osmose und Diffusion. Pflügers Archiv *63*, 86—119.

Hamburger, H. J., 1886, Ueber den Einfluss chemischer Verbindungen auf Blutkörperchen im Zusammenhang mit ihren Molekulargewichten. Archiv (Du Bois-Reymond) f. Physiol., Jahrg. 1886, 476—487.

Hantzsch, A. und Sebaldt, F., 1899, Ueber den Zustand wässeriger Ammoniak- und Aminlösungen. Zeitschr. f. physik. Chemie *30*, 258—299.

Hantzsch, A. und Vagt, C., 1901, Über den Zustand gelöster Stoffe auf Grund von Verteilungsversuchen. Ibid., *38*, 705—742.

Harvey, Edmund Newton, 1911, Studies on the permeability of cells. Journ. of exp. Zoölogy *10*, 507—556.

—»— 1913, A criticism of the indicator method of determining cell permeability for alkalies. Amer. Journ. of Physiol. *31*, 335—342.

—»— 1922, The permeability of cells for oxygen and its significance for the theory of stimulation. Journ. Gen. Physiol. *5*, 215—222.

Hedin, S. G., 1897, Ueber die Permeabilität der Blutkörperchen. Pflügers Archiv *68*, 229—338.

—»— 1898, Versuche über das Vermögen der Salze einiger Stickstoffbasen in die Blutkörperchen einzudringen. Ibid., *70*, 525—543.

Höber, Rudolf, 1926, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Aufl. Leipzig.

—»— 1927, Der Stoffaustausch zwischen Protoplast und Umgebung. Handb. d. norm. u. path. Physiologie. (Herausgeg. von A. Bethe u. a.) I Teil, 407—483. Berlin.

Irwin, Marian, 1925, Accumulation of brillant cresyl blue in the sap of living cells of Nitella in the presence of NH_3. Journ. Gen. Physiol. *9*, 235—253.

—»— 1926, Exit of dye from living cells of Nitella at different ph values. Ibid., *10*, 75—102.

—»— 1928, Spectrophotometric studies of penetration. IV. Ibid., *12*, 147 - 165.

Jacobs, M. H., 1923, The influence of ammonium salts on cell reaction. Ibid., *5*, 181—188.

—»— 1924, Permeability of the cell to diffusing substances. General Cytology, edit. by V. Cowdry. Chicago.

—»— 1927, The exchange of material between the erythrocyte and its surroundings. Harvey Lectures Ser. XXII 146—164.

Klincksieck, Paul et Valette, Th., 1908, Code des Couleurs. Paris.

Kolthoff, I. M., 1923, Der Gebrauch von Farbenindikatoren. 2. Auflage. Berlin.

—»— 1925, Löslichkeitsprodukt und Titrierbarkeit der Alkaloide. Biochem. Zeitschr. *162*, 289—353.

KOZAWA, SHUZO, 1919, Note on the permeability of red corpuscles for glucoses and glucosamine. Journ. of Physiol. *53*, 264—268.

LANDOLT-BÖRNSTEIN, 1923, Physikalisch-chemische Tabellen. 5. Aufl. herausgeg. von W. A. Roth und K. Scheel. Berlin.

LUNDÉN, HARALD, 1908, Affinitätsmessungen an schwachen Säuren und Basen. Samml. chem. u. chem.-techn. Vorträge, Bd. XIV. Stuttgart.

MCCUTCHEON, MORTON and LUCKE, BALDWIN, 1924, The mechanism of vital staining with basic dyes. Journ. Gen. Physiol. *6*, 501—507.

MAYER, A., 1874, Ueber die Aufnahme von Ammoniak durch oberirdische Pflanzenteile. Landw. Versuchsstat. *17*, 329—397.

MAYEDA, SEIBUN, 1928, Die Wirkungsstärke der Alkaloide und ihr Hydrolysengrad in gepufferten Lösungen als Funktion der Wasserstoffionenkonzentration des Mediums. Biochem. Zeitschr. *197*, 410—417.

MEVIUS, WALTER, 1928, Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Planta, *6*, 379—455.

MEYERHOF, OTTO, 1916, Untersuchungen über den Atmungsvorgang nitrifizierender Bakterien. Pflügers Archiv *165*, 229—284.

MICHAELIS, LEONOR, 1922, Die Wasserstoffionenkonzentration. II Aufl. Teil 1. Berlin.

—»— 1926, Die Permeabilität von Membranen. Naturwissensch. *14*, 33—42.

MICHAELIS, L. und DERNBY, K. G., 1922, Der Einfluss der Alkalität auf die Wirksamkeit der Chininalkaloide. Zeitschr. f. Immun.-forsch. *34*, 194—218.

MOND, RUDOLF und HOFFMANN, FRIEDRICH, 1928, Weitere Untersuchungen über die Membranstruktur der roten Blutkörperchen. Pflügers Archiv *219*, 467—480.

OSTERHOUT, W. J. V., 1925, Is living protoplasm permeable to ions? Journ. Gen. Physiol. *8*, 131—146.

OSTERHOUT, W. J. V. and DORCAS, M. J., 1925, The penetration of CO_2 into living protoplasm. Ibid., *9*, 255—267.

OVERTON, ERNST, 1895, Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. Vierteljahrschr. d. Naturforsch. Ges. in Zürich *40*, 159—201.

—»— 1896, Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie mit besonderer Berücksichtigung der Ammoniake und Alkaloide. Ibid., *41*, 383—406; auch Zeitschr. f. physik. Chem. *22*, 189 (1897).

—»— 1899, Ueber die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. Vierteljahrschr. d. Naturforsch. Ges. in Zürich *44*, 88—135.

—»— 1900, Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. *34*, 669—701.

—»— 1902, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. Pflügers Archiv *92*, 115—280.

—»— 1904, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. Ibid., *105*, 176—290.

—»— 1907, Über den Mechanismus der Resorption und der Sekretion. Handb. d. Physiol. d. Menschen. Herausg. v. W. Nagel. Braunschweig.

PACKARD, CHARLES, 1925, The effect of light on the permeability of Paramoecium. Journ. Gen. Physiol. *7*, 363—372.

PFEFFER, W., 1877, Osmotische Untersuchungen. Zweite, unveränd. Aufl. Leipzig 1921.

RICE, OSCAR KNEFLER, 1928, The surface tension and the structure of the surface of aqueous ammonia solutions. Journ. Physic. Chem. *32*, 583—592.

RONA, PETER und BLOCH, ERNST, 1921 a. Beiträge zum Studium der Giftwirkung. Über die Wirkung des Chinins auf Invertase. Biochem. Zeitschr. *118*, 185—212.

—»— 1921 b. Untersuchungen über die Bindung des Chinins an die roten Blutkörperchen und über die Verteilung des Chinins im Blute. Ibid., *121*, 235—258.

—»— 1922, Weitere Untersuchungen über die Bindung des Chinins an die roten Blutkörperchen und über die Wirkung des Chinins auf die Zellatmung. Ibid., *128*, 169—184.

RUHLAND, W., 1909, Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. *46*, 1—54.

—»— 1912, Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Ibid., *51*, 376—431.

—»— 1914, Weitere Beiträge zur Kolloidchemie und physikalischen Chemie der Zelle. Ibid., *54*, 391—447.

—»— 1920, Besprechung. Zeitschr. f. Botanik *12*, 646—647.

RUHLAND, W. und HOFFMANN, C., 1926, Die Permeabilität von Beggiatoa mirabilis. Planta *1*, 1—83.

STILES, WALTER, 1921—1923, Permeability. New Phytologist reprint. N:o 13. London.

TRAUBE, J., 1912, Über die Wirkung von Basen und basischen Salzen auf Alkaloidsalze. Biochem. Zeitschr. *42*, 470—495.

TRAUBE, J. und ONODERA, M., 1914, Internat. Zeitschr. f. phys.-chem. Biol. *1*, 35. Zitiert nach Boresch (1919).

TRÖNDLE, A., 1920, Neue Untersuchungen über die Aufnahme von Stoffen in die Zelle. Biochem. Zeitschr. *112*, 259—285.

DE VRIES, HUGO, 1871, Sur la perméabilité du protoplasme des betteraves rouges. Arch. néerland. *6*, 117—126.

WARBURG, OTTO, 1910, Über die Oxydationen in lebenden Zellen nach Versuchen am Seeigelei. Zeitschr. f. physiol. Chem. *66*, 305—340.

WERTHEIMER E., 1924, Weitere Studien über die Permeabilität lebender Membranen. VI Mitt. Pflügers Archiv *203*, 542—557.

BERICHTIGUNGEN.

Seite 22, Zeile 4 von unten: statt 1926 lies: 1925.

Seite 28, Zeile 8 von oben: statt 1. Experimente lies: 2. Experimente.

Seite 39, nach der letzten Zeile füge hinzu: Durch besondere Versuche wurde ermittelt, dass sowohl kleinmolekulare Basen (NH_3) wie lipoidlösliche Basen (Novocain, Cocain) so langsam durch die Cuticula dringen, dass dies die Versuchsergebnisse in keiner Weise beeinflusst.

Seite 51, Zeile 2 von oben: statt 11.5′ lies: 10′.

Seite 89, Zeile 23 von oben ist zu streichen: (in % vom Anfangswert).

ACTA BOTANICA FENNICA 5
EDIDIT
SOCIETAS PRO FAUNA ET FLORA FENNICA

PERMEABILITÄTSSTUDIEN AN EPIDERMISZELLEN VON RHOEO DISCOLOR

VON

HUGO BÄRLUND

HELSINGFORSIAE 1929

HELSINGFORS
1 9 2 9
DRUCK VON A.-B. F. TILGMANN

Seinem Lehrer und Freund

Runar Collander

Der Verfasser

Inhaltsübersicht.

		Seite
	Vorwort	7
I.	*Einleitung*	9
II.	*Plasmolyseversuche*	11
	A. Die bei den Plasmolyseversuchen angewandte Methodik	11
	1. Das Objekt	11
	2. Die Herstellung der Schnitte und ihre Behandlung vor den eigentlichen Versuchen	13
	3. Die geprüften chemischen Verbindungen und ihre Reinigung	15
	4. Die Herstellung der Lösungsreihen und die allgemeine Anordnung der Plasmolyseversuche	17
	5. Die Bestimmung des Plasmolysegrades	21
	6. Die Berechnung der plasmolysierenden Grenzkonzentration	22
	7. Das gewöhnliche Reihenverfahren	25
	8. Die Methode der Partialdrucke	28
	9. Die sich an die plasmolytischen Versuche anschliessenden Nachbeobachtungen	29
	B. Ergebnisse der Plasmolyseversuche	33
	1. Die zeitliche Veränderung der plasmolysierenden Grenzkonzentration	33
	2. Die temporären plasmolytischen Koeffizienten und die Plasmolysekurven	37
	3. Vergleich der reduzierten Plasmolysekurven	41
	4. Einfluss der Lösungskonzentration auf die Grösse der π-Werte	44
III.	*Permeabilitätsuntersuchungen*	48
	A. Inwieweit kann man aus den Plasmolysekurven Schlüsse auf die Permeiergeschwindigkeit und auf das Permeiervermögen ziehen?	48
	B. Gelten die ausgeführten Permeabilitätsbestimmungen auch für normale, unplasmolysierte Protoplasten?	60
	C. Die Ergebnisse der Permeabilitätsuntersuchungen	64
	1. Gilt das Diffusionsgesetz von FICK für die Permeation?	64
	2. Vergleichende Untersuchungen über Endosmose- und Exosmosegeschwindigkeit	77
	3. Vergleich der Permeierfähigkeiten der untersuchten Verbindungen	82
	a. Vergleich der Permeierfähigkeiten auf Grund der P-Werte	82
	b. Vergleich der Permeierfähigkeiten auf Grund des Gesamtverlaufs der Plasmolysekurven	85

Seite

D. Die Permeabilitätstheorien 91
1. Beziehungen zwischen Permeiervermögen und chemischer Konstitution 91
2. Erfolgt das Permeieren der untersuchten Verbindungen in die Zellen von *Rhoeo* gemäss der reinen Ultrafiltertheorie? 92
3. Das Verhältnis der Oberflächenaktivität der untersuchten Verbindungen zu ihrem Permeiervermögen 93
4. Das Verhältnis des Permeiervermögens der untersuchten Verbindungen zu ihrer relativen Ätherlöslichkeit 97

IV. *Vergleich mit anderen Zellen* 108

Zusammenfassung 111

Zitierte Literatur 113

Die vorliegende Arbeit wurde während der Jahre 1924—1928 im Botanischen Institut der Universität Helsinki ausgeführt, dessen früheren und jetzigen Vorständen, Herrn Professor Dr. Fredr. Elfving und Herrn Professor Dr. K. Linkola, ich meinen ergebensten Dank ausspreche. Von Herrn Dozenten Dr. Widar Brenner habe ich im Anfang meiner experimentellen Arbeit einige wertvolle Ratschläge erhalten und bin ihm dafür aufrichtig dankbar. Vor allem danke ich aber Herrn Dozenten Dr. Runar Collander, der meine Untersuchung angeregt und geleitet hat, für vielfache Unterstützung und Kritik während der Arbeit.

Helsinki, Botanisches Institut der Universität, in December 1928.

Der Verfasser.

I. Einleitung.

Seit einigen Jahren befindet sich die Forschung hinsichtlich der Protoplasmapermeabilität in einer eigentümlichen Lage. Bekanntlich haben die von OVERTON Ende des letzten Jahrhunderts ausgeführten Untersuchungen (46—48)[1]) den Grund zu verhältnismässig lange herrschend gewesenen Anschauungen auf diesem Gebiet der Wissenschaft gelegt. OVERTON hat jedoch seine Permeabilitätsresultate zum grössten Teil in sehr unvollständiger Form veröffentlicht. Besonders seine frühesten Untersuchungen legt er in Form von mehr allgemeinen, vortragsartigen Mitteilungen vor. Als ihren schwächsten Punkt muss man wohl die Unvollständigkeit im Erklären der angewandten Methodik und in der Schilderung der Objekte betrachten, sowie den vollkommenen Mangel an zahlenmässigen Belegen für die aufgestellten allgemeinen Gesetzmässigkeiten. Nur zum Teil hat er diese Lücke in seiner Schrift vom Jahre 1902 (51): »Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie» nachträglich ausgefüllt. Besonders in bezug auf *Pflanzen*objekte hat OVERTON auch später nicht die direkten Versuchsergebnisse beigebracht, auf die er seine bekannte Lipoidtheorie (46—53) gründete.

Dieser — seiner ganzen Grundlage nach unsichere — Stand der Permeabilitätsforschung ist auf die Dauer immer unhaltbarer geworden, zumal man angefangen hat, in den letzten Jahren auch die experimentellen Ergebnisse der OVERTON'schen Arbeiten anzuzweifeln. Es liegt auf der Hand, dass unter diesen Umständen allmählich eine gründliche Nachprüfung seiner Forschungen immer wünschenswerter erscheinen musste.

Einige Zeit nach Beginn meiner eigenen Arbeiten erwies sich eine solche Nachprüfung der OVERTON'schen Versuchsergebnisse als schlechterdings unumgänglich. Im Jahre 1925 erschien nämlich die von RUHLAND und HOFFMANN mit *Beggiatoa mirabilis* ausgeführte Permeabilitätsuntersuchung (70). Diese Forscher kamen zu dem Ergebnis, dass das Protoplasma besagter Bakterie sich gegenüber 51 untersuchten, verschiedenartigen organischen Verbindungen wie ein Ultrafilter verhält. Unter diesen Umständen würde also für die Permeiergeschwindigkeit der untersuchten Verbindungen in die erwähnten

[1]) Die Ziffern weisen auf die im Literaturverzeichnis aufgeführten Werke hin.

Bakterienzellen gar nicht die Lipoidlöslichkeit, sondern ausschliesslich die Grösse ihrer Molekularvolumina massgebend sein. Auf Grund dieses wichtigen Ergebnisses und RUHLAND's früherer Forschungen (58—69) sind RUHLAND und HOFFMANN geneigt, die Ultrafiltertheorie dahin zu verallgemeinern, dass sie auch auf andere Zellen des Pflanzenreiches anwendbar wäre, aber sie geben gleichzeitig zu, dass hinreichende Beweise in diesem Punkte noch fehlen. — Hinsichtlich dieser Ergebnisse von RUHLAND und HOFFMANN stellt sich jedoch z. B. HÖBER (21) auf einen ablehnenden Standpunkt.

In seiner Veröffentlichung von 1925 weist COLLANDER (6) auf Grund früherer Forschungen und gewisser eigener Beobachtungen auf die Möglichkeit hin, dass die Plasmahaut während des Permeierens verschiedener Verbindungen sowohl eine Lipoidmembran wie zugleich auch einen Ultrafilter darstellt. Besonders das rasche Permeieren des lipoidunlöslichen Wassers lässt ihn — wie auch schon frühere Forscher — bezweifeln, dass sich die Plasmahaut den permeierenden Verbindungen gegenüber wie eine reine, einheitliche Lipoidmembran verhält. Ferner teilt er mit, dass er bei der Untersuchung des Permeierens verschiedener Amide festgestellt hat, dass Formamid durch die Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* rascher permeiert als das lipoidlöslichere Acetamid, während die folgenden Glieder dieser homologen Reihe mit zunehmender Molekulargrösse und wachsender Lipoidlöslichkeit immer leichter permeieren, — eine Beobachtung, die auch dazu angetan ist, seine Hypothese von der Beschaffenheit der Plasmahäute, zugleich als Ultrafilter und Lipoidmembran, zu bestätigen.

Um die Richtigkeit dieser und der vielen anderen Permeabilitätshypothesen prüfen zu können, bedarf es vor allem eines viel grösseren *quantitativen Tatsachenmaterials* hinsichtlich der Protoplasmapermeabilität, als der Forschung jetzt zur Verfügung steht.

Neue derartige Tatsachen herbeizuschaffen, ist der Hauptzweck der vorliegenden Arbeit, deren wichtigste Ergebnisse zum Teil schon in einer vorläufigen Mitteilung (9) veröffentlicht worden sind.

Eine eingehende Analyse des jetzigen Standes der Permeabilitätsforschung scheint hier nicht nötig zu sein; es sei in dieser Hinsicht auf die zusammenfassenden Darstellungen von STILES (73), JACOBS (27) und HÖBER (21 u. 22) verwiesen.

II. Plasmolyseversuche.

A. Die bei den Plasmolyseversuchen angewandte Methodik.

1. Das Objekt.

Da zur Ausführung dieser Untersuchung, — wie aus dem folgenden hervorgeht —, von den zu Gebote stehenden Methoden das sogenannte grenzplasmolytische Verfahren gewählt wurde, so war bei Beginn meiner Arbeit genau zu erwägen, mittels welcher Pflanzenobjekte ich wohl die genauesten Ergebnisse erzielen könnte. Das grenzplasmolytische Verfahren stellt an das angewandte Objekt Anforderungen, von denen meines Erachtens folgende die wichtigsten sind:

1) Die Zellen des Objektes müssen sich während der Dauer des Versuchs in der wässerigen Lösung der zu untersuchenden Verbindungen unbeschädigt erhalten.

2) Bei der mikroskopischen Untersuchung der Zellen des Untersuchungsobjektes muss auch schon eine schwache Plasmolyse hinreichend leicht und sicher wahrnehmbar sein.

3) Der osmotische Wert der zu prüfenden verschiedenen Zellen des Untersuchungsobjektes muss möglichst weitgehend gleich gross sein.

Es ist klar, dass, abgesehen von diesen Hauptforderungen, die Tauglichkeit des verwendeten Objekts auch noch auf manche andere Umstände hin beurteilt werden muss. So bemerkt z. B. Stiles (73, S. 96), dass die Erklärung der mit der Plasmolyse verknüpften osmotischen Erscheinungen sich sehr viel einfacher gestaltet und die aus ihr gezogenen Schlussfolgerungen sicherer sind, falls die Membran der zu untersuchenden Pflanzenzelle dünn (also wohl leicht permeabel) und das Protoplasmavolumen im Vergleich zum Zellsaftvolumen möglichst klein ist.

Die Epidermiszellen der Mittelrippe der Blattunterseite von *Rhoeo* (*Tradescantia*) *discolor* scheinen die oben erwähnten Forderungen besonders gut zu erfüllen. Schon de Vries gibt an (84), dass gewisse Teile seiner sog. Indikatorpflanzen sich sehr gut für plasmolytische Untersuchungen eignen, und erwähnt als einen von diesen eben die Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. Bei der Ausführung seiner sehr sorgfältigen plasmolytischen Untersuchungen kommt auch Fitting zu dem Ergebnis (15, S. 9), dass die *Rhoeo*-Zellen sich besonders gut für die in Frage stehende Untersuchungsmethode eignen. Die Ergebnisse, die ich selber im Laufe von über vier Jahren unter ausschliesslicher Benutzung dieser Pflanze zu meinen Untersuchungen gewonnen habe, sind in der erwähnten Hinsicht äusserst günstig.

Ich möchte nun gleich zu Anfang betonen, dass ich während meiner ganzen Arbeit die erste Forderung, nämlich die Zellen des angewandten Objekts

in unbeschädigter Verfassung zu erhalten, für die allerwichtigste gehalten habe. Die chemischen Verbindungen, die ich unter diesen Umständen zur Untersuchung für gut befunden hatte, haben nach meinen Beobachtungen in den angewandten Konzentrationen während des Versuchs die *Rhoeo*-Zellen nicht getötet, ja nicht einmal beschädigt.

Der anthozyanhaltige, violettgefärbte Zellsaft der *Rhoeo*-Zellen lässt schon eine sehr schwache Plasmolyse in diesen Zellen beim Eindringen der farblosen Aussenlösung zwischen Membran und Protoplasma leicht erkennen.

Was nun die dritte Forderung betrifft, die ich für das von mir gewählte Objekt aufstellte, sind bereits FITTING's Untersuchungen (15, S. 9) über die Schwankungen des osmotischen Wertes der *Rhoeo*-Zellen dazu angetan, die Tauglichkeit dieser Pflanze für die fragliche Untersuchung zu erweisen. Zu beachten ist jedoch, dass FITTING's diesbezügliche Ergebnisse zugleich ganz klar beweisen, dass der osmotische Wert der *Rhoeo*-Zellen immerhin in vielen Fällen recht merklich schwankt, zumal wenn man im Blatt weit voneinander gelegene Zellen miteinander vergleicht. Deshalb habe ich nach Möglichkeit versucht, bei meinen Untersuchungen solche Schnitte zu benutzen, die nahe beieinander an einer bestimmten Stelle des Blattes liegen. Aus der im folgenden Abschnitt geschilderten Herstellungsart der Schnitte geht dies klar hervor. Ferner ist die Beobachtung von Wichtigkeit, dass die in einem bestimmten Schnitt befindlichen Zellen sehr selten in den der Blattlängsrichtung folgenden, verschiedenen Enden des Schnittes in verschieden starkem Grad plasmolysiert werden. — Wie FITTING bemerkt (15, S. 10), kann man jedoch mitunter, besonders bei Anwendung von äusserst kleinen Konzentrationsunterschieden beobachten, dass ein bestimmter Schnitt stärker plasmolysiert wird als der Schnitt der nächstfolgenden höheren Konzentration der Lösungsreihe. Solche Unregelmässigkeiten erschweren eine wirklich genaue Bestimmung der plasmolysierenden Grenzkonzentration, bzw. machen sie ganz unmöglich. Daher sind alle Versuchsreihen, in denen derartige Unregelmässigkeiten wahrnehmbar sind, zu verwerfen. Von denjenigen meiner Beobachtungsreihen, die als missglückt gar nicht weiter in Betracht gezogen wurden, gehört ein grosser Teil gerade zu diesen.

In bedeutendem Grade besitzen die Epidermiszellen von *Rhoeo* auch jene Eigenschaften eines zum Studium der Plamolyse geeigneten, guten Objektes, die schon weiter oben, als von STILES ausdrücklich betont, erwähnt wurden. Ist doch das Zytoplasma der betreffenden Zellen seinem Volumen nach im Vergleich zum Zellsaft so klein, dass es z. B. bei 350-facher Vergrösserung oft überhaupt kaum erkennbar ist. Die Innenwände der Epidermiszellen von *Rhoeo* sind verhältnismässig dünn und wohl leicht permeabel, und gerade durch diese Innenwände dringen ja — bei der Undurchlässigkeit der Kutikula —

die untersuchten Verbindungen aus der Aussenlösung in die Epidermiszellen hinein und ebenso aus ihnen heraus.

Ich will natürlich nicht behaupten, dass sich nicht auch ein anderes pflanzliches Objekt finden liesse, das sich für grenzplasmolytische Versuche ebenso gut oder möglicherweise sogar noch besser eignen würde als die von mir gewählten *Rhoeo*-Zellen. Doch glaube ich, dass die Genauigkeit meiner mit *Rhoeo*-Zellen gewonnenen Ergebnisse so gross ist, wie man sie wohl mit den meisten anderen, in der Permeabilitätsliteratur erwähnten pflanzlichen Objekten auf plasmolytischem Wege überhaupt nicht erzielen kann.

Die Ergebnisse, die ich, nachdem ich mit jenen Zellen gearbeitet habe, im folgenden mitteile, können natürlich nicht ohne weiteres allgemeine Gültigkeit beanspruchen. Da sich jedoch meine *Rhoeo*-Untersuchungen sehr umfangreich und an sich auch vielseitig gestalteten, habe ich mich auf ein möglichst gründliches Studium der Permeabilität nur dieses Objektes beschränkt.

Die von mir benutzten *Rhoeo*-Pflanzen waren Stecklinge von Exemplaren, die Prof. Hans Fitting im Botanischen Institut der Universität Bonn für seine eigenen plasmolytischen Forschungen benutzt hat. Freundlicherweise trat er mehrere von diesen seinen Pflanzen an das hiesige Botanische Institut ab.

2. *Die Herstellung der Schnitte und ihre Behandlung vor den eigentlichen Versuchen.*

Aus den in dieser Arbeit an späterer Stelle beschriebenen vergleichenden Plasmolyseversuchen ergibt sich, dass dieselben auf die Weise angeordnet waren, dass zwei chemische Verbindungen immer *gleichzeitig* untersucht wurden. Für jeden solchen Doppelversuch wurden stets aus nur *einem* bestimmten *Rhoeo*-Blatt gemachte Schnitte benutzt.

Zur Herstellung der Schnitte verwandte ich nur tadellos gesund aussehende Blätter mittleren Alters. Ihre Länge betrug ca. 20—30 cm und ihre Breite ca. 3.5—4.5 cm.

Wenn ich aus dem abgeschnittenen Blatt die für die Versuche nötigen Schnitte machte, trennte ich mit einem Messer zuerst einen ca. 5—7 cm langen Basalteil ab, den ich gar nicht benutzte. Die Schnitte machte ich aus demjenigen ca. 5 cm langen Teil der Mittelrippe, welcher der so übriggebliebenen Blattbasis am nächsten ist. Die Rippe ist an dieser Stelle an grossen Blättern relativ gleichmässig ca. 2.5—3.5 mm breit und wird erst näher bei der Blattspitze deutlich schmäler. Mit einem gewöhnlichen, scharfen Rasiermesser spaltete ich nun das oberflächlich gelegene Gewebe der Mittelrippe zunächst durch einen an der Mitte der Rippe entlang laufenden, ca. 1 mm tiefen Einschnitt entzwei, ohne dabei jedoch das ganze Blatt an dieser Stelle in zwei getrennte Hälften zu schneiden. Hierauf machte ich, in ca. 3—4 mm

Entfernung voneinander, quergerichtete, wiederum ca. 1 mm tiefe Einschnitte, die die Teile des Rippengewebes, welche sich auf beiden Seiten des die Mitte der Mittelrippe entlanglaufenden Längsschnittes befinden, in ziemlich gleich grosse, rechteckige Felder teilen. Dann löste ich die entstehenden Stücke durch einen letzten Schnitt, den ich in der Längsrichtung der Mittelrippe machte, vollständig vom Blatte ab, so dass die Schnittfläche nun ziemlich parallel mit der Blattfläche war. Wenn die Mittelrippe nicht über die Blattunterseite hinausragt, was jedoch selten der Fall ist, so ist es gut, die Blattränder ein wenig zurückzubiegen, wenn man diesen letzten Schnitt macht. Bei diesem Verfahren bilden die Schnitte etwa 1.5—2 mm breite, rechteckige Plättchen. Von dem 5 cm langen Rippenteil kann man auf diese Weise ungefähr 30—40 solche herstellen.

Wie im folgenden erläutert werden wird, prüfte ich, als ich die Permeabilitätsbestimmungen vornahm, nur diejenigen Epidermiszellen der Schnitte, die genau in der Mitte der Mittelrippe lagen, also die auf dem Rippenmittelteil gelegene Längsseite der rechteckigen Schnitte. Es war daher wichtig, dass die Schnitte besonders an dieser Stelle die für den auszuführenden Versuch geeignete Dicke besassen. — Bei Experimenten mit die Zellen beschädigenden chemischen Verbindungen machte ich sehr bald die Beobachtung, dass gerade die an den Schnitträndern befindlichen Zellen recht oft zuerst beschädigt werden. Auch zeigte es sich, dass die Zellen von relativ dicken Schnitten schädliche Verbindungen länger ertragen als diejenigen von ganz dünnen.[1]) Ich habe daher versucht, das obengeschilderte definitive Lostrennen der Schnitte vom Blatt so auszuführen, dass die an die Mediane des Nerven grenzende Seite der Schnitte ca. 1/4 mm dick wurde. Die entgegengesetzte Seite der Schnitte wurde zwar ganz dünn, aber diese Seite wurde bei den Versuchen niemals geprüft.

Bei der Ausführung der vergleichenden Versuche habe ich meistens drei verschiedene Lösungsreihen benutzt (vgl. weiter unten). Für diese verschiedenen Reihen wurden stets solche Schnitte angewandt, die im Blatt in fortlaufender Reihe nebeneinander liegen. Die Schnitte kamen dabei nacheinander in derselben Reihenfolge, in der sie im Blatt gewesen waren, in die Lösungsreihen. Damit bei der Verwendung verschiedener Lösungsreihen nicht etwa eine Verwechslung der Schnitte Anlass zu leidigen Irrtümern gäbe, habe ich auch sehr oft die in verschiedenen Lösungsreihen zu untersuchenden Schnitte ihrer Form nach verschieden gestaltet, die einen rechteckig, die anderen in Form eines schiefwinkligen Parallelogramms.

Gleich nach Fertigstellung der Schnitte legte ich sie in kleine, mit Leitungswasser gefüllte Glasgefässe. Dann liess ich sie gewöhnlich bis zum näch-

[1]) Es ist merkwürdig, dass LEPESCHKIN diesen Umstand gar nicht in Betracht zieht, wenn er mit dem Mikrotom so dünne Schnitte von dem Blattpolster der Leguminosen anfertigt, dass darin nur eine einzige Zellschicht vollkommen unverletzter Zellen vorhanden ist (33, S. 234). Mit diesen seinen Schnitten hat er dann die Permeabilität der betreffenden Zellen und die aus ihnen erfolgenden Exosmoseprozesse untersucht! Ich kann mich nach meinen eigenen Erfahrungen nicht der Vermutung erwehren, dass LEPESCHKIN, als er seine Schnitte möglichst dünn machte, um leichter genaue Beobachtungen anstellen zu können, mit Zellen gearbeitet hat, die sich nicht während der ganzen Versuchszeit ganz normal erhalten haben.

sten Morgen, d. h. ca. 16—20 St., im Leitungswasser. FITTING hat bei *Rhoeo*-Zellen besonders genau die aus ihnen während der Wässerungszeit der Schnitte erfolgende Exosmose geprüft. Auf Grund dieser Arbeiten empfiehlt er, die Schnitte vor besonders genauen Versuchen mindestens ca. 4—6 Stunden zu wässern, da die hauptsächliche Exosmose der Zellsaftstoffe nach seinen Beobachtungen etwa während vier Stunden stattfindet (z. B. 15, S. 10—13). Eine mehrstündige Wässerung der *Rhoeo*-Schnitte vor den eigentlichen plasmolytischen Versuchen halte auch ich für empfehlenswert. Später werde ich den Nachweis erbringen, dass bei diesem Verfahren aus den vorher gewässerten Schnitten während der Versuche keine nennenswerte Exosmose von Zellsaftstoffen mehr stattfand, — ein Umstand, der als äusserst wichtig anzusehen ist.

Hier mag beiläufig bemerkt werden, dass ich nie auch nur entfernt eine solche Exosmose, wie sie von ILJIN (25) beschrieben wird, beobachtet habe. Auf Grund meiner Erfahrung kommen mir seine Beobachtungen an *Rhoeo* vollkommen unbegreiflich vor.

3. *Die geprüften chemischen Verbindungen und ihre Reinigung.*

Bei der Auswahl der für die geplanten plasmolytischen Untersuchungen anzuwendenden chemischen Verbindungen berücksichtigte ich vor allem folgende Eigenschaften derselben:

1) Plasmolytisch zu prüfende Verbindungen dürfen während der Versuchszeit die Zellen nicht beschädigen.

2) Um der angewandten Methodik gemäss für die Versuche geeignet zu sein, müssen sie sich in hinreichend hohem Grade in Wasser lösen.

3) Um auf Grund der erzielten Ergebnisse möglichst gut begründete Schlussfolgerungen betreffs der Protoplasmapermeabilität ziehen zu können, müssen Molekulargrösse und Lipoidlöslichkeit der zu prüfenden Verbindungen möglichst weitgehend variieren.

4) In Anbetracht der Kompliziertheit der Permeabilitätserscheinungen wurden zur Prüfung nur undissoziierte Verbindungen gewählt.

Es folgt hier ein Verzeichnis der Verbindungen, die ich, in Erwägung obiger Umstände, für meine Untersuchungen benutzt und mit denen ich meines Erachtens annehmbare Resultate erzielt habe. Die 38 angewandten Verbindungen sind: Saccharose, Laktose, Maltose, Glukose, Methylglukosid, Arabinose, Mannit, Erythrit, Salicin, Arbutin, Harnstoff, Schwefelharnstoff, Methylharnstoff, Dimethylharnstoff (asymm.), Diäthylharnstoff (asymm.), Glycerin, Monacetin, Diacetin, α-Monochlorhydrin, α-Glycerinmonoäthyläther, Dicyándiamid, Succinimid, Malonamid, Laktamid, Formamid, Acetamid, Propionamid, n-Butyramid, i-Valeramid, Äthylenglykol, Pinakonhydrat, Antipyrin, Trimethylcitrat, Triäthylcitrat, Methylurethan, Äthylurethan, Methylalkohol und Äthylalkohol. Die das Permeieren aller dieser

Verbindungen illustrierenden Ergebnisse werden im folgenden dargelegt werden. Mit einigen anderen Verbindungen habe ich dagegen keine befriedigenden Resultate erzielt, da sie zu giftig auf die Zellen wirkten. Solche sind Triacetin, Furfurol, Monobutyrin, Resorcin, i-Butylurethan, Wasserstoffsuperoxyd und Cyanwasserstoff.

Von diesen angeführten, geprüften Verbindungen waren alle ausser Äthylalkohol und Saccharose von Kahlbaum bezogene Präparate. Alle habe ich jedoch nicht so, wie sie geliefert wurden, anwenden können, sondern einige davon mussten gereinigt werden.

Durch Umkristallisieren aus Äther habe ich Acetamid, Propionamid, n-Butyramid, i-Valeramid, Trimethylcitrat, Dimethylharnstoff und Diäthylharnstoff gereinigt. Den Schwefelharnstoff habe ich aus destilliertem Wasser umkristallisiert. Zur Reinigung des Formamids wandte ich die von WILLSTÄTTER und WIRTH (86, S. 1911) angegebene Methode der Vakuumdestillation an. Nachdem ich mittels Schmelzpunktbestimmung oder in anderer Weise festgestellt hatte, dass die so gereinigten Verbindungen rein und ihre wässerigen Lösungen von neutraler Reaktion gegen Lackmus waren, führte ich mit ihnen unmittelbar die plasmolytischen Untersuchungen aus. (Besonders Formamid erwies sich als wenig haltbar.) Auch für die später ausgeführten Oberflächenaktivitäts- und Ätherlöslichkeitsbestimmungen habe ich diese Verbindungen von neuem gereinigt.

Der von mir benutzte Äthylalkohol ist ein Produkt der staatlichen Alkoholfabrik. Die Saccharose wiederum, die ich für meine Untersuchungen bezog, war grosskörniger, zu Bienennahrung bestimmter, nicht gebläuter Zukker. Dieser enthielt regelmässig in Wasser unlösliche Bestandteile. Mit Hilfe eines feinen Haarsiebes sonderte ich die reinen Zuckerkörner von Fremdkörpern. Beim Vergleichen der Wirkung dieses Zuckers und des Kahlbaum'schen reinen »Saccharose»-Präparats auf die Zellen von *Rhoeo* konnte ich deutlich wahrnehmen, dass die Zellen den gereinigten »Bienenzucker» besser vertrugen.

Bei meinen Untersuchungen habe ich meines Wissens nur zwei deutlich unreine Verbindungen benutzt, nämlich Monacetin und Diacetin. Beide waren sauer, besonders die erstere. Für die Plasmolyseversuche verwandte ich als Maximalkonzentration von Monacetin 0.5-molare und von Diacetin 0.2-molare Lösung. Diese stärksten von mir angewandten Acetinlösungen zeigten sich in bezug auf freie Säure, die erstere 0.00125-normal, die letztere 0.00006-normal. Da meine mit diesen Lösungen erzielten Resultate vielleicht wegen des Säuregehaltes in Frage gestellt werden könnten, führte ich die Versuche mit diesen Verbindungen auch vergleichshalber so aus, dass ich der Acetinlösung ein wenig Kalciumkarbonat zwecks Neutralisierung der Säure zusetzte. Die auf diese Weise bestimmten Permeiergeschwindigkeiten der beiden Acetine erwiesen sich als fast ganz übereinstimmend mit den Geschwindigkeiten, die ich beim Prüfen dieser Ester ohne $CaCO_3$ erhielt. So habe ich auch den plasmolytischen Acetinversuchen volle Beweiskraft zugeschrieben, zumal da die unter Zusatz von $CaCO_3$ geprüften Schnitte sich in den angewandten Monacetin- und Diacetinlösungen bis zum folgenden Tag gesund erhielten (etwa 20 St.).

Es fragt sich nun noch, ob eventuell während der Versuche irgendwelche Reaktionen zwischen den verschiedenen Verbindungen und dem als Lösungsmittel benutzten Wasser stattfinden können. Schon der chemisch indifferente Charakter der meisten geprüften Verbindungen macht die Möglichkeit, dass solche störende Reaktionen eintreten könnten, wenig wahrscheinlich. Da die geprüften *Ester* und *Amide* in dieser Hinsicht am empfindlichsten sind, wollen wir sie im folgenden besonders betrachten.

Was zunächst die Verseifung der geprüften Ester im Leitungswasser während der Versuche betrifft, habe ich zur Klärung dieses Umstandes mehrere einfache Bestimmungen ausgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass Lösungen von Trimethylcitrat, Triäthylcitrat und Monochlorhydrin (alle 0.10 GM) innerhalb von 24 Stunden bei 18° C fast gar nicht sauer geworden waren (mit 0.01-norm. NaOH titriert). Betreffs der Diacetin- und der Monacetinlösung, die bei meinen Versuchen ein wenig sauer waren (S. 16), stellte ich fest, dass die geringe Säuremenge unter den obigen Verhältnissen unverändert blieb. An den Lösungen der untersuchten Urethane beobachtete ich wiederum, dass sie unter denselben Verhältnissen neutral blieben, so dass auch sie nicht in festzustellendem Grade unter Entstehung von Ammoniak zerfallen waren.

Was die hydrolytische Spaltung der von mir angewandten Amide in Leitungswasser betrifft, zeigen u. a. OSTWALD's Versuche (45, S. 6) mit Acetamid, dass dem Stattfinden solcher Reaktionen unter den in meinen Versuchen herrschenden Bedingungen keine praktische Bedeutung beizumessen ist. OSTWALD sagt nämlich: »Eine Umwandlung des Acetamids in Ammoniaksalz durch den Einfluss des Lösungswassers fand bei gewöhnlicher Temperatur auch in Monaten nicht statt.» Aus CROCKER's Untersuchungen (10 u. 11) geht wiederum hervor, dass die Hydrolysegeschwindigkeit von Propionamid, n-Butyramid und i-Valeramid, wenn diese mit Säuren und Alkalien behandelt werden, noch kleiner als die von Acetamid ist. Die betreffende Geschwindigkeitskonstante von Formamid ist jedoch bedeutend grösser als die anderen; ziehen wir OSTWALD's obenerwähntes Resultat mit Acetamid in Betracht und vergleichen die Spaltungsgeschwindigkeit von Formamid damit, so haben wir doch wohl allen Grund anzunehmen, dass auch Formamid, wenigstens bei relativ kurzer Versuchsdauer (4—8 St.), bei gewöhnlicher Zimmertemperatur und in neutraler Lösung praktisch unverändert bleibt.

Eine Veränderung der anderen geprüften Verbindungen in Leitungswasser dürfte sogar noch unwahrscheinlicher sein als die der erwähnten Ester und Säureamide.

4. *Die Herstellung der Lösungsreihen und die allgemeine Anordnung der Plasmolyseversuche.*

Als ich an die Herstellung der Lösungen für die Plasmolyseversuche ging, war als erste Frage zu entscheiden, welches Lösungsmittel am besten anzuwenden wäre: destilliertes Wasser oder gewöhnliches Leitungswasser. Soviel ich bemerkt habe, sind im allgemeinen die früheren plasmolytischen Untersuchungen unter Benutzung von destilliertem Wasser ausgeführt worden. Da es jedoch möglich erschien, dass die Zellen besser in solchen Lösungen gedeihen

würden, die aus Leitungswasser hergestellt waren, so machte ich ganz im Anfang meiner Arbeit mit Saccharose, Kaliumnitrat und Harnstoff plasmolytische Versuche zum Vergleich der Tauglichkeit von Leitungswasser und destilliertem Wasser als Lösungsmittel. Diese Versuche entschieden jedoch die Frage nicht klar, sondern die *Rhoeo*-Zellen schienen sich ungefähr ebenso gut in den mit Leitungswasser wie in den mit destilliertem Wasser hergestellten Lösungen zu erhalten. Ich wählte jedoch im weiteren Verlauf meiner Arbeit sehr bald ausschliesslich *Leitungswasser* als Lösungsmittel, weil ich mir sagte, dass es in diesem Falle immerhin wahrscheinlicher sei, dass die normale Permeabilität der Protoplasten erhalten bleibe, als wenn sie sich in einer völlig elektrolytfreien Lösung befänden.

Über das Helsingforser Leitungswasser sei hier bemerkt, dass es chemisch gereinigtes Flusswasser ist. Laut der 1925 im städtischen Wasserleitungswerk vorgenommenen Analysen enthält es an Kalcium relativ wenig oder in dem erwähnten Jahr durchschnittlich 16.6 mg pro Liter. Sein Wasserstoffexponent schwankte im selben Jahr zwischen 6.80 und 7.49 und war durchschnittlich 7.22.

Die Lösungsreihen bereitete ich durch Verdünnen von Stammlösungen, die stets so verdünnt wie möglich hergestellt wurden. Ich habe für meine plasmolytischen Versuche ausschliesslich *volumnormale Lösungen* von verschiedener Konzentration angewandt. Renner z. B. bemerkt (57), dass für das Ausführen genauer Bestimmungen bei plasmolytischen Versuchen gewichtsnormale Lösungen theoretisch vorzuziehen wären, doch gibt er zugleich zu, dass solche Lösungen wegen der bei ihrer Herstellung sich ergebenden Schwierigkeiten ungeeignet sind.

Bei der Ausführung von Plasmolyseversuchen ist es wichtig, *passende Konzentrationsunterschiede* zwischen den einzelnen Lösungen der angewandten Lösungsreihen zu wählen. In dieser Beziehung sind die Fitting'schen *Rhoeo*-Untersuchungen sehr lehrreich. Ich stimme mit Fitting vollkommen darin überein, dass sowohl de Vries wie Lepeschkin (15, S. 5) beide bei ihren Untersuchungen über isotonische Koeffizienten in ihren KNO_3-Reihen ungeeignete Konzentrationsunterschiede angewandt haben, de Vries allzu grosse (0.01 GM) und Lepeschkin unnötig kleine (0.001 GM). Fitting selbst wählt als kleinsten Konzentrationsunterschied der einzelnen Lösungen seiner KNO_3-Reihen 0.0025 GM (15, S. 6—7). In seinen Saccharosereihen verwendet er später die Konzentrationsunterschiede 0.006 und 0.007 GM (z. B. 16, S. 557—559). Da in den Kreis meiner Untersuchungen das Bestimmen der plasmolysierenden Wirkung sehr verschieden rasch permeierender organischer Verbindungen gehörte, ist es klar, dass ich nicht alle meine Verbindungen mit Reihen prüfen konnte, in denen die Konzentrationsunterschiede der einzelnen Lösungen immer gleich gross waren. Im Gegenteil war ich gezwungen, in besonderen Vorversuchen für jede Verbindung die Lösungsreihe auszusuchen, die sich am besten

zur Prüfung der betreffenden Verbindung eignete. Die gewöhnlichsten Konzentrationsunterschiede waren in meinen Reihen 0.005, 0.01 und 0.02 GM.

Das Volumen der einzelnen Lösungen der Reihe betrug 10 cm^3. Ihre Zahl schwankte in den auf verschiedene Weise angelegten Versuchen etwa zwischen 10 und 15. Die einzelnen Verdünnungen wurden in kleinen, runden ca. 10—20 cm^3 fassenden, mit Deckeln versehenen Glasgefässen hergestellt. Ein Teil der letzteren hatte aufgeschliffene Glasdeckel, und gerade diese benutzte ich in den Fällen, in denen die kleinsten Konzentrationsunterschiede benötigt wurden. Auch für die Lösungen solcher Verbindungen, die sich leichter als Wasser verflüchtigen, wie z. B. Methyl- und Äthylalkohol, habe ich stets die besten, d. h. mit aufgeschliffenen Deckeln versehenen Glasgefässe benutzt.

Was die bei den vergleichenden Versuchen angewandten Lösungen betrifft, sei darauf aufmerksam gemacht, dass ich, um Veränderungen der Konzentration zu vermeiden, eine bestimmte Lösungsserie immer nur für *eine* Prüfung benutzte, also immer nur einmal. Daher musste ich natürlich auch während meiner Versuche lediglich für die plasmolytischen Bestimmungen sehr viele Lösungen herstellen: die einzelnen Lösungen der Reihen zählten alles in allem über 5000. Alte Lösungen verwandte ich nicht einmal in den Fällen, wo ich regelmässig zu wiederholten Malen einen Vergleich der Permeiergeschwindigkeit zweier bestimmten Verbindungen ausführte. Es wäre dies meistens auch wegen des schwankenden osmotischen Wertes der Zellen der verschiedenen *Rhoeo*-Blätter nicht möglich gewesen. (Der osmotische Wert variierte bei über 300 untersuchten Blättern zwischen 0.09 und 0.15 GM KNO_3.) Wegen dieser Schwankungen des osmotischen Wertes wurde derselbe immer zuerst in einem Vorversuch mittels KNO_3 annähernd bestimmt. Erst hiernach wurden dann die eigentlichen Lösungsserien für das betreffende Blatt hergestellt.

Fitting richtet sein Augenmerk auch auf die beim Verdünnen von Lösungen aus der *Kontraktion* entstehenden Fehler (15, S. 4—5). Er kommt in seinen Berechnungen zu dem Resultat, dass die Fehler, die hierdurch in den von ihm angewandten Salzlösungen verursacht wurden, so klein sind, dass man sie gegenüber den sonstigen beim Verdünnen der Lösungen entstehenden Fehlern ganz unberücksichtigt lassen kann. — Was meine Untersuchungen betrifft, ist dieser Umstand meines Erachtens besonders bezüglich der Saccharose theoretisch in Betracht zu ziehen, denn gerade mit Saccharoselösungen habe ich fast ausnahmslos den osmotischen Wert der angewandten Schnitte gemessen. In Saccharoselösungen sind jedoch die Kontraktionserscheinungen ganz unbedeutend, zumal in so kleinen Konzentrationen, wie man sie für plasmolytische Versuche anwenden muss (vgl. z. B. 31, S. 427, Wade's Resultate). Man kann sie ohne die geringsten Bedenken ganz unberücksichtigt lassen. Sehr viel grösser sind die Kontraktionen z. B. in Äthylalkohollösungen. Diese Verbindung habe ich für meine Versuche höchstens in 1-normaler Lösung angewandt, deren Kontraktion ca. 0.3 % ist, oder also ca. 0.03 cm^3 auf je 10 cm^3. Dieses Volumen tangiert die beim Verdünnen mit

den Büretten in den einzelnen Lösungen entstehenden Volumfehler. Da Äthylalkohol jedoch besonders rasch in die *Rhoeo*-Zellen permeiert, braucht man die aus der Kontraktion seiner Lösungen entstehenden ganz unbedeutenden Fehler nicht zu berücksichtigen, — gegenüber anderen Umständen, welche in solchem Fall auf die Messung in viel höherem Grade störend einwirken. Die Kontraktion der verschiedenen Lösungen habe ich daher beim Verdünnen der Lösungen und beim Berechnen der Ergebnisse gänzlich unberücksichtigt gelassen.

Besonders wichtig schien es mir, die Versuche so anzuordnen, dass die mit verschiedenen Stoffen erzielten Ergebnisse untereinander völlig vergleichbar seien. Aus diesem Grunde wurde *immer* die plasmolysierende Wirkung zweier verschiedener Verbindungen gleichzeitig, d. h. unter ganz denselben Verhältnissen, an Schnitten aus demselben Blatt vergleichend bestimmt. Daher bin ich der Meinung, dass ich beim Vergleichen meiner Resultate gänzlich absehen kann von der verschieden grossen Permeabilität der Zellen von verschiedenen Blättern, von der Temperatur während des Experimentierens und allen anderen zeitlich veränderlichen äusseren Faktoren, wie Beleuchtung, atmosphärischen Verunreinigungen, Jahres- und Tageszeit usw. — Den Einfluss der Temperatur habe ich trotzdem in der Weise berücksichtigt, dass ich den plasmolysierenden Einfluss der zu untersuchenden Verbindungen für mehrere Verbindungspaare bei einigen verschiedenen Temperaturen vergleichend bestimmte. So konnte ich feststellen, nachdem ich zunächst z. B. Harnstoff und Glycerin bei ca. 18° C miteinander verglichen hatte, dass das *Verhältnis* der plasmolysierenden Wirkung von gleichen Verbindungen auch bei ca. 21° C annähernd dasselbe war. Ferner habe ich Untersuchungen mit denselben Verbindungspaaren sowohl im Sommer wie im Winter angestellt, wobei ich ebenfalls ungefähr dasselbe Wirkungsverhältnis konstatierte. Darum wirkt also in meinen Untersuchungen z. B. der von FITTING zweifellos richtig beobachtete Umstand, dass die *Rhoeo*-Zellen im Winter im allgemeinen weniger permeabel für manche Salze, Glycerin und Harnstoff sind als im Sommer (15 u. 17), in keiner Weise störend ein. — Alle meine plasmolytischen Arbeiten führte ich in einem nach Norden gelegenen Raum des Botanischen Laboratoriums aus, wo während des Experimentierens eine verhältnismässig gleichmässige Temperatur herrschte. Den durchaus grössten Teil meiner Versuche habe ich bei 18—20° C ausgeführt. Im Winter sank jedoch die Temperatur mitunter auf 16° C und stieg im Sommer auf 24° C. Solchen grossen Temperaturunterschieden habe ich jedoch vorzubeugen versucht, indem ich in meinem Arbeitsraum einen zweckmässigen Luftaustausch entweder vom Laboratoriumsflur oder von draussen her herbeiführte.

Beim Auswählen der gleichzeitig miteinander zu vergleichenden Verbindungen habe ich besonders einige Verbindungen zu wiederholten Malen als

Vergleichsobjekte für andere geprüft. Von diesen Vergleichsverbindungen seien vor allem folgende, am meisten angewandte erwähnt: Äthylalkohol, Äthylenglykol, Acetamid, Glycerin, Harnstoff und Saccharose. Ihre plasmolytische Wirkung auf die *Rhoeo*-Zellen ist sehr verschieden gross, und so repräsentieren sie in dieser Hinsicht ebenfalls gut die verschiedenen Gruppen aller von mir geprüften Verbindungen.

5. *Die Bestimmung des Plasmolysegrades.*

Um die Plasmolyse der Zellen zu beobachten, brachte ich zunächst den Schnitt mittels einer stumpfen Pinzette auf das Objektglas in einen Tropfen der Lösung, in welcher der betreffende Schnitt eine bestimmte Zeit lang gewesen war. Nach Auflegen des Deckglases untersuchte ich diesen immer bei 80-facher Vergrösserung. *Hierbei richtete ich meine Aufmerksamkeit nur auf ganz bestimmte Zellen, und zwar auf die drei äussersten, unverletzten Zellreihen der auf dem Mittelteil der Mittelrippe gelegenen Längsseite.* In diesen in der Blattrippenrichtung laufenden Reihen sind die einzelnen Zellen ihrer Längsrichtung nach hintereinander gelegen.

Wenn ich die betreffenden Zellen bereits bei 80-facher Vergrösserung deutlich plasmolysiert sah, trug ich als Plasmolysegrad des Schnittes pl = »alle Zellen plasmolysiert» ein. Die Zeichen für diesen und zugleich auch andere Plasmolysegrade entlehnte ich von FITTING (15, S. 6), aber, wie aus dem Folgenden hervorgeht, habe ich zu ihnen bestimmte Zwischengradzeichen hinzugefügt. Wenn ich hingegen bei 80-facher Vergrösserung nicht deutlich konstatieren konnte, dass alle zu untersuchenden Zellen des Schnittes plasmolysiert waren, dann prüfte ich den gleichen Schnitt auch noch mit 350-facher Vergrösserung nach. Dabei konnte ich häufig feststellen, dass gerade aus den Zellen der drei in Frage stehenden Zellreihen nur ein Teil plasmolysiert worden war. Nun galt es, das Verhältnis der Anzahl plasmolysierter Zellen zur Anzahl aller zu prüfenden Zellen zu bestimmen. Hierbei berücksichtigte ich gar nicht den Plasmolysegrad der einzelnen Zellen, sondern nur den Umstand, ob die Zelle wahrnehmbar plasmolysiert war oder nicht. Nehmen wir an, dass ich beim Abzählen ermittelt hatte, dass in einem bestimmten Schnitt alles in allem 100 Zellen zu untersuchen waren (in Wirklichkeit betrug in der Mehrzahl der Schnitte die Zahl der Zellen der drei äussersten Zellreihen durchschnittlich etwa 75). Waren nun nur ungefähr 10—15 zu prüfende Zellen nicht plasmolysiert, so bezeichnete ich den Plasmolysegrad des untersuchten Schnittes mit ∞ = »die meisten Zellen plasmolysiert». Ebenso verwandte ich die Zeichen $^2/_3$, $^1/_2$ und $^1/_3$ um anzuzeigen, dass von den untersuchten Zellen ein Teil plasmolysiert war, welcher der Zeichenbruchzahl entsprach. Ausserdem verwandte ich noch drei verschiedene Hauptzeichen, und zwar v (»vereinzelte Zellen plasmolysiert»), gv (»ganz vereinzelte Zellen plasmolysiert») und 0. Von diesen bedeuten v und gv, dass auf 100 Zellen 15—20, beziehungsweise ca. 10 plasmolysiert worden waren; 0 schliesslich bezeichnet, dass höchstens nur ca. 2—3 Zellen von 100 plasmolysiert worden waren. — Zu

diesen acht Zeichen des Plasmolysegrades habe ich jedoch noch sieben Zwischenwerte hinzugefügt. Für die Fälle, in denen ich beim Zählen der Zellen zwischen den plasmolysierten und den nicht plasmolysierten Zellen ein solches Verhältnis bemerkte, das in der Mitte zwischen den obigen Werten lag, habe ich die Zeichen pl-∞, ∞-$^2/_3$, $^2/_3$-$^1/_2$, $^1/_2$-$^1/_3$, $^1/_3$-v, v-gv und gv-0 hinzugefügt. Auf Grund des Gesagten wandte ich hiervon z. B. die Zeichen ∞-$^2/_3$ und $^1/_3$-v in den Fällen an, wo von 100 zu prüfenden Zellen ca. 75 und 25 plasmolysiert worden waren, und die anderen Zwischenwertzeichen in ganz entsprechenden Fällen. — Wie aus dem Obigen erhellt, habe ich bei der Anstellung meiner Beobachtung also die Anzahl der zu prüfenden Zellen und der entweder plasmolysierten oder nicht plasmolysierten Zellen genau *gezählt* und daraufhin die obigen Bezeichnungen gemacht. Dies betrifft insbesondere die Versuche meiner ersten Arbeitszeit, aber auch verschiedene spätere Untersuchungen, wie z. B. von besonders stark oder besonders schwach plasmolysierenden Verbindungen. Oft jedoch habe ich auch nach Prüfung des Schnittes, auf Grund der allgemeinen Auffassung, die ich dabei aus dem Zahlenwertverhältnis der plasmolysierten und der unplasmolysierten Zellen gewann, diese Bezeichnungen *schätzungsweise* gemacht. Eine derartige Schätzung hinsichtlich der *Rhoeo*-Zellen wird bedeutend durch den Umstand erleichtert, dass in den meisten Fällen von den Zellen der zu prüfenden drei Zellreihen die am weitesten nach dem Rande zu gelegenen verhältnismässig regelmässig als erste sowohl plasmolysiert wie deplasmolysiert werden; von den Randzellen des Schnittes aus schreiten dann diese Prozesse nach den mittleren Zellen des Schnittes zu fort.

Was nun die Ausführung der obigen Beobachtungen anlangt, gebe ich zu, dass beim Abschätzen kleine Irrtümer vorkommen können. Statt des Plasmolysegrades $^2/_3$ z. B. konnte ich entweder ∞-$^2/_3$ oder $^2/_3$-$^1/_2$ setzen. Dagegen betrachte ich die Einschätzung des Plasmolysegrades $^2/_3$ auf ∞ oder $^1/_2$ schon als groben Fehler, der bei sorgfältiger Prüfung jedes Schnittes nicht vorzukommen braucht. In den Fällen, wo ich bei meinen Beobachtungen sowohl die zu prüfenden Zellen wie die plasmolysierten gezählt habe, sind die Bezeichnungen natürlich auch am genauesten.

Zu Beginn meiner plasmolytischen Arbeit rechnete ich für die mikroskopische Untersuchung des Plasmolysegrades eines Schnittes 2 Minuten. Im späteren Verlauf meiner Arbeit, als ich zugleich gewohnt wurde, die Beobachtungen rascher und sicherer zu machen, konnte ich jedoch leicht eine Bestimmung innerhalb einer Minute erledigen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der *Rhoeo*-Zellen verwendet FITTING als Lichtquelle ausschliesslich Glühlampenlicht (17, S. 8). Hierin bin ich von seinem Verfahren abgewichen. Und zwar habe ich meine Beobachtungen möglichst bei Tageslicht gemacht. Früh morgens und später am Abend war ich jedoch beim Prüfen der Schnitte auf Gasbeleuchtung angewiesen. Irgendeinen Nachteil, der der präzisen Ausführung meiner Arbeit aus diesem Umstand hätte erwachsen können, habe ich nicht bemerkt.

6. *Die Berechnung der plasmolysierenden Grenzkonzentration.*

Unter der *temporären plasmolysierenden Grenzkonzentration* eines bestimmten Stoffes verstehe ich diejenige Konzentration des betreffenden Stoffes,

in der zu der betreffenden Zeit von den Zellen des untersuchten Schnittes ebenso viele plasmolysiert wie unplasmolysiert sind. Dabei bin ich mir wohl bewusst, dass (was allerdings bisher meistens übersehen wurde) die Konzentration der Aussenlösung dicht an der Aussenfläche der Protoplasten eine andere als in der *freien* Aussenlösung sein wird, solange der osmotische Austausch zwischen dem Zellinnern und der Aussenlösung noch im Gang ist. Da jedoch die Konzentration der Lösung unmittelbar an der Oberfläche der Protoplasten im allgemeinen nicht genau bekannt ist, rechne ich vorläufig nur mit der mir allein bekannten Konzentration der freien Aussenlösung.

Wir wollen nun ein Beispiel prüfen, das die Bestimmung der plasmolysierenden Grenzkonzentration mittels einer Lösungsreihe erläutert. Bei einem gewissen, mit Glycerin ausgeführten Versuch stellte ich 1 Stunde nach Beginn des Versuchs folgende Plasmolysegrade fest:

0.18	0.20	0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	0.32
0	0	v-$^1/_3$	$^2/_3$-∞	∞	∞-pl	pl	pl

Wie ist nun auf Grund dieser Beobachtungen die plasmolysierende Grenzkonzentration C_1 von Glycerin (S. 22), die dem betreffenden Zeitpunkt (1 St.) entspricht, zu bestimmen? Die obige Glycerinreihe lässt erkennen, dass $0.240 > C_1 > 0.220$ ist. Aber welche der zwischen den Werten 0.240 und 2.220 befindlichen Konzentrationen muss man auf Grund des geschilderten Versuchs als plasmolysierende Grenzkonzentration bezeichnen? Alle solche Zwischenwertbestimmungen habe ich mittels einer speziellen Interpolationstabelle ausgeführt. Da STILES' Kritik sich besonders scharf (73, S. 176) gerade gegen die Bestimmung des Plasmolysegrades in FITTING's *Rhoeo*-Untersuchungen richtet, möchte ich mein Verfahren in diesem Punkt besonders gründlich erläutern und beschreibe daher im folgenden meine mit dem Bestimmen der plasmolysierenden Grenzkonzentration verbundene Interpolationsmethode.

Meine Interpolationstabelle habe ich für alle die verschiedenen Konzentrationsunterschiede aufgestellt, die in meinen Lösungsreihen in Frage kamen. Es waren: 0.004, 0.005, 0.006, 0.008, 0.010, 0.015 und 0.020 GM. So habe ich sieben verschiedene Tabellen angelegt, indem ich als gemeinsames Mass der Konzentrationsunterschiede 0.001 GM nahm, so dass die Interpolationswerte für die Intervalle 4, 5, 6, 8, 10, 15 und 20 zu berechnen waren. Ferner musste ich den Zeichen 0-gv, gv, gv-v, v, v-$^1/_3$ usw. die mathematisch bestimmten Werte geben, auf die sich die Bestimmung des Plasmolysegrades der Schnitte gründete. Die im folgenden auftretende Bruchzahl (und entsprechende berechnete Dezimalzahl) bedeutet, ein wie grosser Teil aller geprüften Zellen dem der Bezeichnung entsprechenden Wert gemäss plasmolysiert worden war.

0	= 0	= 0.000	$^1/_2$ = $^1/_2$ = 0.500
0-gv	= $^1/_{20}$	= 0.050	$^1/_2$-$^2/_3$ = $^1/_2$-$^2/_3$ = 0.583
gv	= $^1/_{10}$	= 0.100	$^2/_3$ = $^2/_3$ = 0.667
gv-v	= $^1/_9$-$^1/_7$	= 0.127	$^2/_3$-∞ = $^2/_3$-$^5/_6$ = 0.750
v	= $^1/_7$-$^1/_5$	= 0.172	∞ = $^5/_6$-$^9/_{10}$ = 0.867
v-$^1/_3$	= $^1/_5$-$^1/_3$	= 0.267	∞-pl = $^9/_{10}$-1 = 0.950
$^1/_3$	= $^1/_3$	= 0.333	pl = 1 = 1.000
$^1/_3$-$^1/_2$	= $^1/_3$-$^1/_2$	= 0.417	

Auf Grund der obigen Bezeichnungswerte kann ich meine Interpolationstafel z. B. auf das Intervall 20 berechnen unter Benutzung der Formel

$$(a_x - a_y) : (0.500 - a_y) = d : x,$$

worin a_x der nächste beobachtete Bezeichnungswert oberhalb der gesuchten plasmolysierenden Grenzkonzentration ist und a_y entsprechend der nächstuntere Bezeichnungswert; d = Intervall = 20, und x ist die Zahl, welche angibt, wieviel Konzentrationsunterschied-Einheiten (0.001 GM) der der Bezeichnung a_y entsprechenden Konzentration hinzugefügt werden müssen, um die der Bezeichnung $^1/_2$ entsprechende gesuchte plasmolysierende Grenzkonzentration C_1 zu erhalten. Setzt man diese Werte in die obige Gleichung ein, so erhält man:

$x : 20 = (0.500 - 0.267) : (0.750 - 0.267)$, woraus sich ergibt $x = 9.65$. Die der Beobachtungszeit (1 St.) entsprechende plasmolysierende Grenzkonzentration des Glycerins beträgt also in diesem Falle $C_1 = 0.220 + (9.65 \cdot 0.001) = 0.22965$ oder abgekürzt 0.230 GM (beim Bestimmen der Grenzkonzentration benutze ich stets drei Dezimalstellen). Diese Interpolationswerte (x) habe ich nicht für jede Versuchsreihe getrennt berechnet, sondern habe, wie ich schon w. o. bemerkte, vollständige Tabellen für alle in Frage kommenden Intervälle angelegt. Ich halte es für einen Vorteil, dass ich auf die Weise in allen meinen vergleichenden plasmolytischen Versuchen beim Bestimmen der Grenzkonzentrationen in diesem Punkt ganz konsequent verfahren habe.

Natürlich kommt die Interpolation nicht immer in Frage, denn beim Bestimmen des Plasmolysegrades trifft verhältnismässig oft gerade die Bezeichnung $^1/_2$ genau auf irgendeine bestimmte Lösung, wobei natürlich auch die betreffende Lösung die gesuchte plasmolysierende Grenzkonzentration ist.

Bereits im Vorhergehenden wies ich darauf hin, dass STILES in seinem Referat über FITTING's plasmolytische Methode gerade die von diesem angewandte — seiner, STILES', Meinung nach — grobe Schätzung des Plasmolysegrades der Schnitte kritisiert. STILES sagt (73, S. 176): »The degree of plasmolysis is measured by a rough estimate of the proportion of cells in the preparation which are plasmolysed, as, for example, one-half, or three-quarters. As there is no great precision in this mode of determinig the degree of plasmolysis, FITTING's method cannot be regarded as an exact one.» — STILES' Kritik trifft vielleicht gewissermassen auch meine Berechnung der plasmolysierenden Grenzkonzentration. Stellen wir also fest, wie grosse Fehler die von mir zur Angabe des Plasmolysegrades benutzten Bezeichnungen in Wirklichkeit verursachen können. In dem den Glycerinversuch betreffenden Beispiel erhielt ich als Endwert von C_1 0.230 GM. Wie ich w. o. erklärte,

nalte ich es für möglich, den Plasmolysegrad $^1/_3$-v versehentlich entweder auf v oder auf $^1/_3$ zu bewerten und ebenso den Grad $^2/_3$-∞ entweder auf $^2/_3$ oder auf ∞. Gesetzt den Fall, ich habe mich bei meinem Glycerinversuch hinsichtlich des Wertes a_y ($^1/_3$-v) geirrt, aber a_x richtig bezeichnet, so bekommen wir als plasmolytische Grenzkonzentration entweder $C_1 = 0.231$ ($a_y = v$) oder $C_1 = 0.228$ ($a_y = {}^1/_3$). Die Fehlergrössen sind demnach in bezug auf die angenommene richtige Grenzkonzentration (0.230) 0.001 und 0.002 GM. Notiere ich hingegen den Wert von a_x falsch, d. h. anstatt $^2/_3$-∞ entweder $^2/_3$ oder ∞, aber zugleich den Wert von a_y richtig v-$^1/_3$, so erhalte ich als C_1-Wert entsprechend 0.232 ($a_x = {}^2/_3$) oder 0.228 ($a_x = \infty$), also in beiden Fällen ist der Fehler 0.002 GM. Bezeichne ich schliesslich sowohl die Werte von a_x wie von a_y unrichtig und in entgegengesetzter Richtung unrichtig, d. h. $a_y = v$ und $a_x = \infty$ oder $a_y = {}^1/_3$ und $a_x = {}^2/_3$, so bleiben die C_1-Werte so gut wie richtig (0.229 und 0.230), denn die Fehler heben sich gegenseitig auf. Notiere ich aber beide Bezeichnungen falsch und in derselben Richtung falsch, d. h. entweder $a_y = v$ und $a_x = {}^2/_3$ oder $a_y = {}^1/_3$ und $a_x = \infty$, so erhalte ich die schlechtesten C_1-Werte, oder im ersteren Fall $C_1 = 0.233$ und im letzteren $C_1 = 0.226$. Die Fehler demnach: 0.003 und 0.004 GM. Was die Lösungsreihen betrifft, in denen die Konzentrationsunterschiede der einzelnen Lösungen kleiner als 0.020 GM sind, z. B. 0.010 und 0.005 GM, so vermindert sich natürlich in diesen die Grösse des Fehlers: in der ersteren wird er 2 mal und in der letzteren 4 mal kleiner als in der Glycerinreihe, da in ihnen die Konzentrationsunterschiede auch entsprechend 2 und 4 mal kleiner sind.

Aus dem Obigen erhellt zur Genüge, wie genau ich die plasmolysierenden Grenzkonzentrationen der Schnitte habe bestimmen können. Ich bin der Ansicht, dass die in dieser Hinsicht von mir erzielte Genauigkeit für meine vergleichenden Versuche vollkommen ausreichend gewesen ist. Denn nicht die beim Abschätzen des Plasmolysegrades gemachten Fehler, sondern die tatsächlich zwischen den verschiedenen Schnitten bestehenden Unterschiede hinsichtlich des osmotischen Wertes des Zellsaftes sind es, die die Genauigkeit der in Rede stehenden Bestimmungen begrenzen. Wären nicht jene kleinen Unterschiede im osmotischen Wert vorhanden, so wäre es ja ein Leichtes, durch Verminderung der Konzentrationsunterschiede zwischen den benachbarten Lösungen die Genauigkeit der Bestimmungen noch sehr viel weiter zu treiben, als jetzt tatsächlich möglich ist.

7. *Das gewöhnliche Reihenverfahren.*

Um gut miteinander vergleichbare Resultate zu bekommen, war es m. E. besonders wichtig, alle Permeiergeschwindigkeitsbestimmungen nach derselben Methode auszuführen. Es musste ferner die Methode gesucht werden, mit der ich die in quantitativer Hinsicht besten Ergebnisse erzielen konnte. Unter besonderer Berücksichtigung dieser beiden Umstände wählte ich als Untersuchungsmethode das *grenzplasmolytische Verfahren*, zumal da es auf Grund der FITTING'schen Arbeiten besonders geeignet erschien. Ich habe dieses Verfahren in zwei verschiedenen Modifikationen benutzt, die ich 1. das gewöhnliche Reihenverfahren und 2. die Methode der Partialdrucke nenne.

Die Protokolle zweier nach dem gewöhnlichen Reihenverfahren mit Dicyandiamid und Harnstoff ausgeführten vergleichenden Versuche haben folgendes Aussehen:

Versuch Nr. 251 (vergleichbar mit Nr. 252). *Harnstoff.* 16. 2. 27. Temp. 20—21° C. Die Schnitte 18 St. gewässert. Salpeterwert 0.110 GM (entspr. 0.180 GM Saccharose). C = 0.180 GM Saccharose.

	9.30	9.31	9.32	9.33	9.34	9.35	9.36	9.37	9.38	9.39	9.40	9.41	9.42		
	0.18	0.19	0.20	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	GM Harnstoff	C_1
10′	0	0	0	0	$^2/_3$-∞	pl	pl	pl	pl	pl	pl	pl	pl		0.217
20′	0	0	gv	$^1/_2$-$^2/_3$	pl	pl	—	—	—	—	—	—	—		0.208
30′	0	0	gv	$^2/_3$	pl	pl	—		—	—		—	—		0.207
40′	0	0	gv	$^2/_3$-∞	pl	pl	—	—	—	—	—	—	—		0.206
60′	0	0	0	$^1/_2$-$^2/_3$	pl	pl	—	—	—	—	—	—	—		0.209
80′	0	0	0	gv	pl	pl	—	—	—	—	—	—	—		0.214
100′	0	0	0	0	∞	∞-pl	pl	—	—	—	—	—	—		0.216
120′	0	0	0	0	$^2/_3$	∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.218
180′	0	0	0	0	0	$^1/_2$-$^2/_3$	pl	pl	—	—	—	—	—		0.229
240′	0	0	0	0	0	v-$^1/_3$	∞	pl	pl	—	—	—	—		0.234
7 St.	—	—	—	—	—	0	0	$^1/_2$	pl	pl	pl	pl	pl		0.250

22St. Schnitte bes. gut erhalten; plasmolysieren sich schön in KNO_3.

Versuch Nr. 252 (vergleichbar mit Nr. 251). *Dicyandiamid.* 16. 2. 27. Temp. 20—21° C. Die Schnitte 18 St. gewässert. Salpeterwert und C wie in Nr. 251.

	10.30	10.31	10.32	10.33	10.34	10.35	10.36	10.37	10.38	10.39	10.40		
	0.18	0.19	0.20	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	GM Dicyandiamid	C_1
10′	0	0	0	v	$^1/_2$	$^2/_3$	pl	pl	pl	pl	pl		0.220
20′	0	0	0	$^1/_2$-$^2/_3$	pl	pl	—	—	—	—	—		0.209
30′	0	0	0	∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.206
40′	0	0	0	∞-pl	pl	pl	—	—	—	—	—		0.205
60′	0	0	0	∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.206
80′	0	0	0	$^2/_3$-∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.207
100′	0	0	0	$^1/_2$-$^2/_3$	pl	pl	—	—	—	—	—		0.209
120′	0	0	0	$^1/_2$	pl	pl	—	—	—	—	—		0.210
180′	0	0	0	0	$^1/_2$	∞-pl	pl	—	—	—	—		0.220
240′	0	0	0	0	v-$^1/_3$	∞	pl	pl	—	—	—		0.224
7 St.	—	—	—	—	0	0	∞	pl	pl	—	—		0.236

22 St. Schnitte bes. gut erhalten; plasmolysieren sich schön in KNO_3.

Die Zahlen 9.30—9.42 bzw. 10.30—10.40 bezeichnen die Zeitpunkte, zu denen die einzelnen Schnitte in die Harnstoff- bzw. Dicyandiamidlösungen gebracht wurden. Bei diesem Versuch habe ich also auf die mikroskopische Untersuchung jedes Schnittes 1 Minute verwandt. Da die erste Beobachtung 10 Min. nach Beginn des Versuches gemacht wurde, ist folglich der Schnitt der ersten Lösung 9 Uhr 40, der der zweiten 9 Uhr 41 geprüft worden, usw. Die Zeichen 10′—24 St. zeigen natürlich an, wie lange Zeit nach dem Versuchsbeginn die

verschiedenen Beobachtungsreihen gemacht wurden; C_1 ist die jedem Zeitpunkt entsprechende beobachtete plasmolysierende Grenzkonzentration von Harnstoff bzw. Dicyandiamid. Das —Zeichen schliesslich weist darauf hin, dass es für unnötig gehalten wurde, die betreffende Beobachtung anzustellen.

Da die als Vorprobe (vgl. S. 19) ausgeführte Bestimmung des Salpeterwertes des Zellsafts aus mehreren Gründen oft nicht sehr genau war, fand ich es für meine Berechnungen am besten, häufig die KNO_3-Werte mit einer Saccharosereihe zu kontrollieren, in welcher die Konzentrationsunterschiede 0.01 GM waren. In den oben als Beispiel mitgeteilten Versuchen stimmt zufälligerweise der auf Grund des KNO_3-Wertes berechnete Saccharosewert ($1.64 \cdot 0.110 = 0.180$) genau mit dem direkt bestimmten überein, indessen liegt der Fall nicht immer so. In meinen Berechnungen habe ich nun regelmässig den direkt bestimmten Saccharosewert im Auge gehabt, welcher festgestellt wurde, nachdem die Schnitte 2 St. in Saccharoselösung gewesen waren, d. h. zur Zeit der Maximalplasmolyse der Zellen. Im Protokoll ist dieser Zuckerwert des Zellsaftes mit C bezeichnet. — Als eine gewisse, wenigstens theoretische Fehlerquelle dieses Reihenverfahrens kann man den Umstand betrachten, dass bei Anwendung der betreffenden Methode nicht der osmotische Wert für diejenigen Zellen bestimmt worden ist, mit denen der eigentliche vergleichende Versuch ausgeführt wurde, sondern für andere Zellen, die den als eigentliche Objekte angewandten Zellen desselben Blattes möglichst nahe liegen. Deshalb habe ich mit den Schnitten so abgewechselt, dass z. B. beim ersten Versuch die Schnitte von der Blattbasisseite in die Harnstoffreihe kamen (siehe S. 14) und in die Dicyandiamidreihe dann entsprechend die Schnitte aus der Blattspitzenseite; beim folgenden vergleichenden Versuch habe ich jedoch umgekehrt die mehr basalen Schnitte in Dicyandiamid- und die Schnitte aus dem Spitzenteil in Harnstofflösungen gelegt. Bei der Kleinheit der Schwankungen des osmotischen Wertes der Epidermiszellen innerhalb eines bestimmten Blattes sind die Ungenauigkeiten, die der in Rede stehenden Fehlerquelle entspringen, meistens als unwesentlich zu betrachten. Wenn es sich dagegen um sehr schwach plasmolysierende Verbindungen handelt oder um den Vergleich von Verbindungen, die einander in ihrem Plasmolysiervermögen sehr ähnlich sind, dann könnten die Schwankungen des osmotischen Wertes zu bedeutenden Fehlern Anlass geben. In solchen Fällen ist aber immer der osmotische Wert jeder verwendeten Schnittserie *direkt* bestimmt worden.

Einer Erklärung bedarf noch die in den Protokollen in diesem Kapitel mit 22 St. eingetragene Beobachtung. Es ist dies die Kontrollbeobachtung, deren Zweck in diesem Versuch war, festzustellen, ob sich die angewandten Zellen auch noch am Tage nach dem eigentlichen Versuchstag gesund erhalten hatten. Diese Nachprüfungen waren so wichtig, dass ich diesem methodischen Teil meiner Untersuchung später ein Kbesonderes apitel über dieselben anfüge.

8. *Die Methode der Partialdrucke.*

Bei ausschliesslicher Anwendung des eben dargelegten gewöhnlichen Reihenverfahrens wäre es unmöglich gewesen, vergleichsweise die plasmolysierende Wirkung aller jener Verbindungen auf die *Rhoeo*-Zellen zu prüfen, mit denen ich, wie oben erwähnt, in dieser Hinsicht positive Resultate erzielt habe. Denn erstens lösen sich manche derselben in Wasser nicht in solcher Konzentration, dass sie die Zellen plasmolysieren würden; andere (z. B. Monochlorhydrin, Glycerinmonoäthyläther, Antipyrin) beschädigen sie in stärkerer Konzentration, während schliesslich wieder andere (z. B. die Urethane, Methyl- und Äthylalkohol) so schnell permeieren, dass sie auch in grosser Konzentration angewandt keine Plasmolyse verursachen. Unter diesen Umständen wären meine Versuche ausschliesslich auf die vergleichende Untersuchung in Wasser leicht löslicher, unschädlicher und verhältnismässig langsam permeierender Verbindungen beschränkt, hätte ich nicht ausser der gewöhnlichen Reihenmethode für meine Zwecke die Methode der Partialdrucke anwenden können, deren Prinzip bereits von Overton (53) angegeben ist.

Der Grundgedanke der Methode der Partialdrucke ist der, dass man durch Zusatz eines nicht eindringenden Stoffes, z. B. von Zucker, zu einer Lösung, die an und für sich zu schwach ist, um Plasmolyse herbeizuführen, den osmotischen Wert dieser Lösung um einen bestimmten Betrag erhöht, so dass sie plasmolysierend wirkt. Als nicht eindringender Zusatzstoff eignet sich Saccharose sehr gut, da sie, wie bekannt, im allgemeinen besonders langsam in lebende Zellen permeiert.

Nun wäre es aber nicht zweckmässig, die Schnitte direkt in mit Zucker versetzte Lösungen der zu untersuchenden Verbindung zu legen, denn die Saccharose dringt so langsam durch die Zellmembranen bis an die Aussenfläche der Protoplasten heran, dass die maximale Plasmolyse in Rohrzuckerlösungen erst nach 1—1 $^1/_2$ oder gar erst nach 2 Stunden erreicht ist. Nach Ablauf einer so langen Zeit wird aber der zu untersuchende Stoff meistens schon zu einem beträchtlichen Teil in den Zellsaft eingedrungen sein, und man hätte also in diesem Falle keine Gelegenheit, die ersten Phasen der plasmolysierenden Wirkung des betreffenden Stoffes zu beobachten.

Um diese Schwierigkeit zu umgehen, muss man die Schnitte zuerst in Zuckerlösungen einlegen und sie hier so lange belassen, bis das osmotische Gleichgewicht zwischen Zellsaft und Zuckerlösung erreicht ist. Erst hiernach werden die Schnitte in Lösungen übergeführt, die dieselben Konzentrationen an Zucker enthalten und ausserdem noch den zu untersuchenden Stoff, dessen plasmolysierende Wirkung somit gleich von Anfang an beobachtet werden kann.

Nehmen wir ein konkretes Beispiel! Ich wähle dazu die Versuche Nr. 234—235 mit Formamid und Acetamid. Es werden — abgesehen von der für

den Vorversuch erforderlichen KNO_3-Reihe — drei Lösungsreihen hergestellt. Erstens eine Reihe bestehend aus 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.11, 0.12, 0.13, 0.14, 0.15, 0.16, 0.17, 0.18 und 0.19 GM Saccharose in Leitungswasser gelöst. Zweitens eine Reihe von Lösungen, die genau dieselben Saccharosekonzentrationen enthalten, aber mit dem konstanten Zusatz von 0.2 GM Formamid. Drittens eine Reihe wie die vorige, aber mit Acetamid an Stelle von Formamid.

Jede der für den eigentlichen Versuch verwandten Schnittreihe kommt nach 16-stündiger Wässerung auf zwei St. in die reine Zuckerreihe, worin die Grenzkonzentration bestimmt wird. Dann werden die Schnitte unter Beibehaltung ihrer Reihenfolge in die zuckerhaltigen Formamid- bzw. Acetamidlösungen gebracht. Die in diesen Lösungen stattfindenden Verschiebungen der Grenzkonzentration — zuerst im Sinne einer kurzdauernden Plasmolysezunahme, dann in entgegengesetzter Richtung — werden in kurzen Intervallen beobachtet. Die Protokolle finden wir auf S. 30 u. 31 dargestellt und können aus ihnen entnehmen, dass sich der Plasmolyse- und der Deplasmolyseprozess in grossen Zügen wie in gewöhnlichen Reihen abspielen.

9. *Die sich an die plasmolytischen Versuche anschliessenden Nachbeobachtungen.*

Wie unumgänglich notwendig eine sorgfältige Prüfung der schädigenden Wirkung der von mir untersuchten Verbindungen ist, habe ich bereits auf Seite 11 betont. Die angewandten Verbindungen verhielten sich in dieser Beziehung zu den *Rhoeo*-Zellen auf sehr verschiedene Weise. Wir wollen nun in diesem Kapitel die Grundlagen der Schlussfolgerungen nachprüfen, denen gemäss ich die verschiedenen Verbindungen unter Berücksichtigung ihrer Schädlichkeit für meine Versuche gutgeheissen habe.

Sehr oft lässt sich auf die schädliche Wirkung einer Verbindung aus der Entfärbung des Zellsaftes schliessen oder auch aus der abnorm starken Plasmolyse mancher Zellen, wobei wiederum die Zellsaftfarbe dunkelviolett wird. Oft färbt auch eine schädliche Verbindung einen bestimmten Zellteil stark und auf bestimmte Weise: so werden z. B. Zellkerne in Arbutinlösungen nach einer hinreichenden Zeit ganz braun. — Ich habe mich jedoch nicht mit solchen augenfälligen Anzeichen von Beschädigung der Zellen begnügt. *Vielmehr wurde das Unbeschädigtbleiben der Zellen in den Plasmolyseversuchen immer durch nochmaliges Plasmolysieren oder durch Deplasmolysieren der Zellen nach den eigentlichen Versuchen festgestellt* (4; 3, S. 6). Bei der Anwendung des gewöhnlichen Reihenverfahrens konnte man nach beendetem Versuch in den Schnitten aller Lösungen der Reihe meistens den Plasmolysegrad 0 beobachten. Dann habe ich die Zellen mit passender, schwach hypertonischer KNO_3- oder Saccharoselösung plasmolysiert. Die für die normalen *Rhoeo*-Zellen cha-

Versuch Nr. 234 (vergleichbar mit Nr. 235). *Formamid.* 29. 7. 26. Temp. 21° C. Schnitte zuerst 16 St. gewässert, dann 2 St. in der Zuckerreihe. Plasmolysierende Grenzkonz. des Zuckers 0.175 GM.

	10.30	10.31	10.32	10.33	10.34	10.35	10.36	10.37	10.38	10.39	10.40	10.41	10.42			
0.200 GM Formamid +	0.04	0.06	0.08	0.10	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	GM Zucker. C_1 =	0.200	Formamid +
5′	0	0	0	gv-v	$^1/_3$-$^1/_2$	∞-pl	pl	pl	pl	pl	pl	pl	pl		0.112	GM Zucker
10′	0	0	0	0	0	∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.116	» »
15′	—	—	—	—	0	$^1/_2$	∞	pl	—	—	—	—	—		0.120	» »
20′	—	—	—	—	—	gv	∞	∞-pl	pl	—	—	—	—		0.125	» »
30′	—	—	—	—	—	0	gv	∞	∞-pl	pl	—	—	—		0.135	» »
40′	—	—	—	—	—	—	0	$^1/_2$	$^2/_3$	pl	pl	—	—		0.140	» »
50′	—	—	—	—	—	—	—	gv-v	$^1/_2$	∞	pl	—	—		0.150	» »
60′	—	—	—	—	—	—	—	0	$^1/_3$	$^2/_3$-∞	∞	pl	pl		0.154	» »
80′	—	—	—	—	—	—	—	—	gv	$^1/_3$-$^1/_2$	$^2/_3$-∞	pl	pl		0.162	» »
100′	—	—	—	—	—	—	—	—	0	$^1/_3$	$^1/_2$	pl	pl		0.170	» »
120′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	v	v-$^1/_3$	pl	pl		0.173	» »
180′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0	pl	pl		0.175	» »
240′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0	pl	pl		0.175	» »
6 St.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0	pl	pl		0.175	» »
21 St.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	pl	pl		0.175	» »

21 St. Schnitte gut erhalten; schöne Plasmolyse in KNO_3 und Deplasmolyse in Leitungswasser.

Versuch Nr. 235 (vergleichbar mit Nr. 234). *Acetamid*. 29. 7. 26. Temp. 21° C. Schnitte zuerst 16 St. gewässert, dann 2 St. in der Zuckerreihe. Plasmolysierende Grenzkonz. des Zuckers 0.176 GM.

	11.30	11.31	11.32	11.33	11.34	11.35	11.36	11.37	11.38	11.39	11.40	11.41	11.42			
0.200 GM Acetamid +	0.04	0.06	0.08	0.10	0.11	0.12	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	GM Zucker. C_1 =	0.200	Acetamid +
5′	0	gv	v	$^2/_3$	∞	pl	pl	pl	pl	pl	pl	pl	pl		0.093	GM Zucker
10′	0	v	$^1/_2$-$^2/_3$	pl	pl	—	—	—	—	—	—	—	—		0.076	» »
15′	0	v	$^2/_3$	∞-pl	pl	pl	—	—	—	—	—	—	—		0.073	» »
20′	0	0	v	∞-pl	∞-pl	pl	—	—	—	—	—	—	—		0.088	» »
30′	—	—	0	$^1/_2$	$^2/_3$	∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.100	» »
40′	—	—	—	0	v	∞	pl	pl	—	—	—	—	—		0.115	» »
50′	—	—	—	—	0	v-$^1/_3$	$^1/_2$	∞-pl	pl	—	—	—	—		0.130	» »
60′	—	—	—	—	—	0-gv	gv	$^1/_2$-$^2/_3$	$^2/_3$	pl	pl	—	—		0.138	» »
80′	—	—	—	—	—	0	0	gv	v	∞	pl	pl	pl		0.155	» »
100′	—	—	—	—	—	—	—	0	0	$^1/_2$	∞-pl	pl	pl		0.160	» »
120′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	gv	∞	pl	pl		0.165	» »
180′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	$^1/_2$	∞-pl	pl		0.170	» »
240′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	v	∞	pl		0.175	» »
6 St.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	∞	pl		0.176	» »
21 St.	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$^1/_2$	pl		0.180	» »

21 St. Schnitte bes. gut erhalten; Plasmolyse in KNO_3 und Deplasmolyse in Leitungswasser.

rakteristische, besonders gleichmässige Plasmolyse erwies dann, dass die Zellen sich während der Versuchszeit gesund erhalten hatten. Diese Beobachtungen richteten sich vor allem auf die am Rande des Schnittes befindlichen Zellreihen, die auch während der eigentlichen Versuche beobachtet worden waren. War hingegen bei den Nachbeobachtungen der Plasmolysegrad der Schnitte mancher Lösungen der Reihe = 0, derjenige anderer = pl (wie stets, wenn ich die Methode der Partialdrucke anwandte), so habe ich in den Nachprüfungen mit passenden KNO_3- und Saccharoselösungen die ersteren plasmolysiert, die letzteren deplasmolysiert.

Wenn die Protoplasten nach Abschluss des eigentlichen Versuchs (d. h. wenigstens 4 oder 8 St. nach Versuchsbeginn) nicht mehr plasmolysiert oder deplasmolysiert werden konnten, wurde der betreffende Versuch immer verworfen. Bis zu der am folgenden Tag angestellten Nachprüfung (ca. 20—24 St. nach Beginn des Versuches) hatten jedoch einige Verbindungen die Zellen in dem Grade beschädigt, dass z. B. die Ausführung der an die Nachbeobachtung sich anschliessenden Bestimmung des Plasmolysegrades erschwert oder gänzlich unmöglich gemacht war. Solche Verbindungen sind: Arbutin, Monacetin, i-Valeramid und Zitronensäuremethyl- und Äthylester. Mit diesen Verbindungen führte ich somit die eigentlichen Beobachtungen während 4 Stunden (mit Arbutin 8 St.) aus. In Monacetinlösungen erhielten sich jedoch die Zellen bei Kalciumkarbonatzusatz auch bis zum folgenden Tage unbeschädigt (siehe S. 16). Mit allen anderen von mir untersuchten Verbindungen habe ich auch noch bei der Nachkontrolle am folgenden Tage ein positives Ergebnis erzielt; sie haben also in den angewandten Konzentrationen auch während der sehr viel längeren Zeit als der Beobachtungsdauer die Zellen nicht beschädigt.

Bei der Anwendung der Methode der Partialdrucke schloss sich an die Nachbeobachtung des folgenden Tages die Schätzung des Plasmolysegrades an, die ca. 20—24 St. nach Beginn des Versuchs ausgeführt wurde. Ich verweise auf den Seite 30 und 31 erörterten Versuch mit Formamid und Acetamid. Bei diesem Versuch sehen wir, dass 21 St. nach Versuchsanfang die Schnitte der Formamidzuckerreihe ganz dieselbe plasmolysierende Saccharosegrenzkonzentration aufweisen (0.175 GM), die an denselben Schnitten mittels der reinen Saccharosereihe vor dem eigentlichen Versuch konstatiert wurde. Beim Acetamidversuch dagegen sehen wir auf Grund der Nachobservation (21 St.), dass sich diese Grenzkonzentration im Vergleich zum anfänglichen Saccharosewert ein wenig verschoben hat (von 0.176 GM auf 0.180 GM). Diese Bestimmungen der plasmolysierenden Grenzkonzentration am nächsten Tag habe ich bei Anwendung der Methode der Partialdrucke mit allen anderen von mir untersuchten Verbindungen gemacht, ausser eben mit den obenangeführten, zu schädlich auf die *Rhoeo*-Zellen wirkenden.

B. Ergebnisse der Plasmolyseversuche.

1. *Die zeitliche Veränderung der plasmolysierenden Grenzkonzentrationen.*

In jedem Plasmolyseversuch kann man zwei Phasen unterscheiden: 1. die Phase der zunehmenden Plasmolyse und 2. die Phase der abnehmenden Plasmolyse oder der Deplasmolyse. Dazwischen liegt das Stadium der maximalen Plasmolyse. Während der ersten Phase nimmt die Grösse der temporären plasmolysierenden Grenzkonzentration (vgl. S. 22) ab, während der zweiten Phase steigt sie an: im Stadium der maximalen Plasmolyse ist sie im Minimum.

Dass die maximale Plasmolyse nicht sofort eintritt, wenn die Schnitte in die plasmolysierenden Lösungen kommen, rührt hauptsächlich davon her, dass das Plasmolytikum eine gewisse Zeit braucht, um in voller Konzentration durch die Zellmembranen hindurch bis an die Protoplasten heran vorzudringen. In Anbetracht dieses Umstandes versteht man leicht, dass die temporäre plasmolysierende Grenzkonzentration (der freien Aussenlösung!) anfangs sehr gross ist und erst nach einer gewissen Zeit ihr Minimum, das der maximalen Plasmolyse entspricht, erreicht.

Es ist aber wichtig zu beachten, dass das Eintreten der maximalen Plasmolyse und das Einsetzen der Deplasmolyse nicht bedeuten, dass jetzt der plasmolysierende Stoff in seiner ganzen Konzentration bis an den Protoplasten herangedrungen ist. Vielmehr kann das Hinzudiffundieren des plasmolysierenden Stoffes durch die Zellmembranen auch noch während der Deplasmolyse fortfahren. Dass die Plasmolyse trotzdem zurückgeht, beruht auf dem Eindringen des Plasmolytikums durch das Plasma in den Zellsaft.

Im folgenden wollen wir den Verlauf der Plasmolyse und der Deplasmolyse unter dem Einfluss der untersuchten Verbindungen betrachten. Da die Wiedergabe sämtlicher Versuchsprotokolle selbst in gekürzter Form zu viel Raum beanspruchen würde, müssen wir uns hier mit einer Auswahl derselben begnügen. Dabei werden, um Platz zu sparen, nicht die Plasmolysebefunde in den verschiedenen untersuchten Konzentrationen aufgezählt, sondern bloss die daraus errechneten, mit C_1 bezeichneten temporären plasmolysierenden Grenzkonzentrationen, deren zeitliche Veränderung somit bequem zu überblicken ist. Der ursprüngliche Zuckerwert des Zellsaftes ist wiederum mit C bezeichnet worden. Die Auswahl der im folgenden mitgeteilten Versuche ist so getroffen, dass jede mit positivem Erfolg untersuchte Verbindung wenigstens einmal erwähnt wird.

Nr. 84—86. 2. 7. 25.

Temp. 19—19.5° C. Schnitte 15 St. gewässert. C : 0.175 GM.

Zeit:	30′	60′	120′	180′	240′	8St.	12St.	24St.	
I C_1:	0.177	0.175	0.175	0.175	0.175	0.176	0.178	0.190	GM Saccharose
II »	0.183	0.177	0.176	0.176	0.176	0.176	0.181	0.193	» Laktose
III »	0.188	0.180	0.180	0.180	0.183	0.185	0.190	0.200	» Maltose

Nr. 138—140. 8. 8. 25.

Temp. 21—22° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.164 GM.

Zeit:	60′	120′	240′	8St.	11St.	24St.	
I C_1:	0.167	0.166	0.166	0.169	0.172	0.180	GM Saccharose
II »	0.070	0.068	0.065	0.068	0.074	0.080	» » +0.100 GM Salicin
III »	0.075	0.070	0.070	0.069	0.070	—	» » +0.100 GM Arbutin

Nr. 93—96. 14. 7. 25.

Temp. 20—21° C. Schnitte 15 St. gewässert. C : 0.170 GM.

Zeit:	30′	60′	120′	240′	8St.	12St.	24St.	
I C_1:	0.173	0.171	0.170	0.170	0.170	0.173	0.183	GM Saccharose
II »	0.176	0.174	0.173	0.173	0.173	0.182	0.205	» Glukose
III »	0.178	0.176	0.174	0.174	0.178	0.180	0.205	» Methylglukosid
IV »	0.203	0.194	0.190	0.190	0.193	0.200	0.210	» Arabinose

Nr. 109—111. 25. 7. 25.

Temp. 23—24° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.160 GM.

Zeit:	60′	120′	180′	240′	6St.	8St.	11St.	24St.	
I C_1:	0.162	0.161	0.161	0.161	0.161	0.162	0.166	0.178	GM Saccharose
II »	0.164	0.163	0.163	0.163	0.163	0.165	0.166	0.174	» Mannit
III »	0.178	0.177	0.177	0.178	0.179	0.183	0.187	0.208	» Erythrit

Nr. 161—163. 12. 1. 26.

Temp. 16—17° C. Schnitte 15 St. gewässert. C : 0.220 GM.

Zeit:	20′	40′	60′	120′	180′	240′	5St.	6St.	8St.	12St.	24St.	35St.	48St.	
I C_1:	0.238	0.226	0.221	0.219	0.219	0.220	0.220	0.220	0.222	0.227	0.240	—	—	GM Saccharose
II »	0.260	0.245	0.238	0.233	0.233	0.233	0.235	0.236	0.239	0.240	0.248	0.258	0.265	» Malonamid
III »	0.255	0.246	0.247	0.255	0.265	0.280	—	—	0.325	—	—	—	—	» Harnstoff

Nr. 249—250. 8. 2. 27.

Temp. 19—20° C. Schnitte 14 St. gewässert. C : 0.200 GM.

Zeit:	10′	20′	30′	40′	60′	80′	100′	120′	180′	240′	8St.	
I C_1:	0.245	0.225	0.220	0.220	0.222	0.225	0.232	0.239	0.250	0.268	0.319	GM Harnstoff
II »	0.255	0.225	0.224	0.224	0.225	0.225	0.228	0.230	0.245	0.260	0.301	» Dicyandiamid

Nr. 31—32. 5. 2. 25.

Temp. 17—18° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.197 GM.

Zeit:	20′	30′	40′	60′	120′	180′	240′	5St.	8St.	
I C_1:	0.232	0.230	0.233	0.234	0.238	0.245	0.253	0.260	0.308	GM Harnstoff
II »	0.238	0.237	0.238	0.243	0.250	0.259	0.270	0.280	0.329	» Laktamid

Nr. 268—269. 8. 7. 27.

Temp. 21.5—22°.5. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.200 GM.

Zeit:	10′	20′	30′	40′	50′	60′	80′	100′	120′	180′	240′	5St.	6St.	8St.	
I C_1:	0.045	0.038	0.029	0.032	0.035	0.037	0.041	0.044	0.050	0.061	0.074	0.082	0.088	0.105	S[1]) + 0.200 GM Schwefelharnstoff
II »	0.043	0.040	0.036	0.038	0.043	0.045	0.051	0.059	0.065	0.077	0.098	0.106	0.111	0.128	S + 0.200 GM Methylharnstoff

[1]) S bedeutet hier und im folgenden: »GM Saccharose».

Nr. 299—300. 14. 8. 27.

Temp. 24° C. Schnitte 15 St. gewässert. C : 0.210 GM. $CaCO_3$-Zusatz.

Zeit: 10′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′

I C_1: 0.071 0.080 0.058 0.062 0.069 0.072 0.080 0.088 0.095 0.109 0.132 S + 0.200 GM Glycerin

II » 0.104 0.094 0.092 0.096 0.102 0.110 0.116 0.121 0.128 0.135 0.151 S + 0.200 GM Monacetin

Nr. 213—214. 17. 6. 26.

Temp. 18—18°.5 C. Schnitte 18 St. gewässert. C : I = 0.165 GM, II = 0.167 GM.

Zeit: 5′ 10′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 8St. 22St.

I C_1: 0.127 0.117 0.112 0.114 0.118 0.125 0.126 0.132 0.138 0.145 0.155 0.157 0.162 0.164 S + 0.100 GM Dimethylharnstoff

II » 0.123 0.115 0.115 0.118 0.127 0.140 0.147 0.153 0.157 0.160 0.164 0.166 0.167 0.168 S + 0.100 GM Diäthylharnstoff

Nr. 241—242. 13. 8. 26.

Temp. 21° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : I = 0.165 GM, II = 0.164 GM.

Zeit: 5′ 10′ 15′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 8St. 21St.

I C_1: 0.075 0.060 0.068 0.085 0.093 0.108 0.125 0.135 0.150 0.155 0.158 0.163 0.164 0.165 0.168 S + 0.200 GM Succinimid

II » 0.108 0.103 0.108 0.113 0.126 0.130 0.138 0.140 0.150 0.153 0.155 0.157 0.159 0.164 0.164 S + 0.200 GM Glycerinäthyläther

Nr. 65—66. 2. 6. 25.

Temp. 17—18° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.170 GM.

Zeit: 10′ 20′ 30′ 40′ 60′ 120′ 180′ 240′ 8St. 19St.

I C_1: 0.000 0.015 0.042 0.060 0.100 0.130 0.152 0.168 0.169 0.174 S + 0.300 GM Succinimid

II » 0.085 0.095 0.110 0.130 0.141 0.163 0.168 0.170 0.171 0.173 S + 0.300 GM Äthylenglykol

Nr. 234—235. 29. 7. 26.

Temp. 21° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : I = 0.175, II = 0.176 GM.

Zeit: 5′ 10′ 15′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 6St. 21St.

I C_1: 0.112 0.116 0.120 0.125 0.135 0.140 0.150 0.154 0.162 0.170 0.173 0.175 0.175 0.175 0.175 S + 0.200 GM Formamid

II » 0.093 0.076 0.073 0.088 0.100 0.115 0.130 0.138 0.155 0.160 0.165 0.170 0.175 0.176 0.180 S + 0.200 GM Acetamid

Nr. 236—237. 4 8. 26.

Temp. 21—22° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : I = 0.160, II = 0.165 GM.

Zeit: 5′ 10′ 15′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 240′ 8St. 18St.

I C_1: 0.095 0.100 0.103 0.113 0.125 0.140 0.144 0.146 0.148 0.152 0.156 0.160 0.160 0.162 S + 0.200 GM Formamid

II » 0.125 0.120 0.130 0.132 0.140 0.148 0.153, 0.155 0.160 0.161 0.163 0.164 0.165 0.169 S + 0.200 GM Äthylenglykol

Nr. 125—127. 30. 7. 25.

Temp. 24—24°.5 C. Schnitte 15 St. gewässert. C : 0.175 GM. $CaCO_3$-Zusatz.

Zeit: 10′ 20′ 40′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 8St. 22St.

I C_1: 0.136 0.140 0.155 0.163 0.166 0.169 0.171 0.174 0.175 0.175 0.177 S + 0.200 GM Äthylenglykol

II » 0.130 0.130 0.140 0.155 0.157 0.158 0.159 0.160 0.163 0.173 0.179 S + 0.200 GM Diacetin

III » 0.128 0.129 0.151 0.159 0.164 0.165 0.169 0.172 0.173 0.174 0.175 S + 0.200 GM α-Monochlorhydrin

Nr. 133—134. 3. 8. 25.

Temp. 22—23° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : I = 0.176, II = 0.175 GM.

Zeit: 10′ 20′ 40′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 8St. 22St.

I C_1: 0.144 0.145 0.152 0.160 0.162 0.164 0.168 0.170 0.174 0.175 0.177 S + 0.200 GM Pinakonhydrat

II » 0.138 0.141 0.154 0.164 0.168 0.169 0.172 0.173 0.175 0.175 0.178 S + 0.200 GM Äthylenglykol

Nr. 154—155. 3. 1. 26.

Temp. 16—19° C. Schnitte 18 St. gewässert. C : I = 0.206, II = 0.210 GM.

Zeit: 5′ 10′ 15′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 8St. 20St.

I C_1: 0.100 0.140 0.160 0.168 0.180 0.183 0.186 0.190 0.195 0.200 0.202 0.203 0.205 0.206 0.210 S + 0.500 GM n-Butyramid

II » 0.070 0.075 0.082 0.093 0.125 0.152 0.168 0.180 0.189 0.198 0.205 0.208 0.209 0.210 0.213 S + 0.500 GM Propionamid

Nr. 158—159. 9. 1. 26.

Temp. 17—19° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.197 GM.

Zeit: 5′ 10′ 15′ 20′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 100′ 120′ 180′ 240′ 8St. 22St.

I C_1: 0.162 0.162 0.166 0.170 0.173 0.175 0.178 0.180 0.183 0.186 0.187 0.193 0.195 — — S + 0.300 GM i-Valeramid

II » 0.160 0.155 0.162 0.165 0.168 0.170 0.174 0.176 0.178 0.180 0.185 0.191 0.195 0.196 0.196 S + 0.300 GM n-Butyramid

Nr. 191—192. 3. 3. 26.

Temp. 17—18° C. Schnitte 20 St. gewässert. C : I = 0.209, II = 0.208 GM.

Zeit: 3′ 6′ 9′ 12′ 15′ 20′ 30′ 40′ 60′ 80′ 100′ 120′ 240′ 8St. 18St.

I C_1: 0.206 0.204 0.202 0.202 0.202 0.200 0.201 0.203 0.204 0.206 0.208 0.208 0.209 0.209 0.212 S + 0.150 GM Methylurethan

II » 0.202 0.200 0.199 0.198 0.198 0.197 0.195 0.196 0.198 0.200 0.203 0.205 0.208 0.208 0.209 S + 0.150 GM Antipyrin

Nr. 193—194. 6. 3. 26.

Temp. 17—18° C. Schnitte 19 St. gewässert. C : I = 0.183, II = 0.185 GM.

Zeit: 3′ 6′ 9′ 12′ 15′ 20′ 25′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 120 240′ 16St.

I C_1: 0.182 0.181 0.181 0.179 0.178 0.177 0.175 0.172 0.170 0.174 0.177 0.181 0.182 0.182 0.186 S + 0.300 GM Methylurethan

II » 0.185 0.183 0.183 0.182 0.182 0.180 0.180 0.179 0.180 0.181 0.181 0.184 0.185 0.185 0.185 S + 0.300 GM Äthylurethan

Nr. 185—186. 21. 2. 26.

Temp. 16—17° C. Schnitte 17 St. gewässert. C : I = 0.204, II = 0.208 GM.

Zeit: 3′ 6′ 9′ 12′ 15′ 20′ 25′ 30′ 40′ 50′ 60′ 80′ 120′ 240′ 24St.

I C_1: 0.201 0.200 0.198 0.192 0.192 0.192 0.191 0.192 0.196 0.198 0.200 0 200 0.201 0.201 0.203 S + 1.000 GM Methylalkohol

II » 0.203 0.200 0.194 0.193 0.193 0.192 0.193 0.193 0.194 0.195 0.198 0.201 0.204 0.206 0.210 S + 1.000 GM Äthylalkohol

Nr. 181—182. 14. 2. 26.

Temp. 16° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : 0.187 GM.

Zeit:	3′	6′	9′	12′	15′	20′	25′	30′	40′	50′	60′	80′	120′	240′	18St.
I C_1:	0.182	0.181	0.180	0.177	0.176	0.174	0.174	0.170	0.172	0.173	0.175	0.178	0.182	0.184	0.191 S
															+1.000 GM Methylurethan
II »	0.185	0.183	0.183	0.182	0.181	0.181	0.180	0.182	0.184	0.184	0.185	0.185	0.185	0.186	0.189 S
															+1.000 GM Methylalkohol

Nr. 229—230. 15. 7. 26.

Temp. 23° C. Schnitte 16 St. gewässert. C : I = 0.165, II = 0.158 GM.

Zeit:	5′	10′	15′	20′	30′	40′	50′	60′	80′	100′	120′	240′	16St.
I C_1:	0.160	0.158	0.159	0.160	0.162	0.163	0.163	0.163	0.164	0.164	0.164	0.165	— S + 0.100 GM Trimethylcitrat
II »	0.158	0.158	0.157	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	0.158	— S + 0.080 GM Triäthylcitrat

2. *Die temporären plasmolytischen Koeffizienten und die Plasmolysekurven.*

Als passendes, in Form einer Zahl ausgedrücktes Mass für die *temporäre plasmolysierende Wirkung* einer bestimmten Verbindung nehme ich in dieser Abhandlung das Verhältnis des ursprünglichen osmotischen Wertes (C) der Zellen bei Grenzplasmolyse zu der auf die schon w. o. erklärte Art gewonnenen, einem bestimmten Zeitpunkt entsprechenden plasmolysierenden Grenzkonzentration der Aussenlösung (C_1), also den Quotienten $\frac{C}{C_1}$. *Ich nenne ihn den temporären (also dem betreffenden Zeitpunkt entsprechenden) plasmolytischen Koeffizienten der geprüften Verbindung und bezeichne ihn mit* π[1]). Bei Anwendung des gewöhnlichen Reihenverfahrens werden die Werte C und C_1 *direkt* bestimmt. (Der Wert von C wurde fast immer mit Saccharose bestimmt; ausnahmsweise wurde er mit KNO_3 festgestellt und unter Benutzung des von FITTING bestimmten osmotischen Koeffizienten 1.64 auf Saccharose umgerechnet.) So z. B. ist in dem auf Seite 26 geschilderten Harnstoffversuch C = 0.180 und das 60 Min. entsprechende C_1 = 0.209 GM; der diesem Zeitpunkt entsprechende plasmolytische Koeffizient des Harnstoffs ist demnach auf Grund dieses Versuchs $= \frac{0.180}{0.209} = 0.861$. — Bei Anwendung der Methode der Partialdrucke ist von der ursprünglichen osmotischen Konzentration der Zellen die Saccharosekonzentration (c) der betreffenden Lösung abzuziehen, wodurch man als π-Wert $\frac{C-c}{C_1}$ erhält. Demnach ist z. B. in dem auf

[1]) Früher (9) habe ich dieselbe Grösse den derzeitigen osmotischen Koeffizienten genannt und ihn mit ω bezeichnet.

Seite 30 beschriebenen Formamidversuch das 60 Min. entsprechende $\pi = \frac{0.175 - 0.154}{0.200} = 0.105$.

Die Bestimmung der temporären plasmolytischen Koeffizienten gründet sich somit auf keinerlei hypothetische Annahme, wie teilweise z. B. die Berechnung der während einer bestimmten Zeit in den Zellsaft permeierten Verbindungsmenge, *sondern allein auf empirisch festgestellte Tatsachen.*

FITTING's (15) osmotischer Koeffizient, den er mit o bezeichnet, drückt das Verhältnis der ursprünglichen Konzentration des Zellsaftes zu der Konzentration der Aussenlösung zu dem Zeitpunkt aus, wo die plasmolysierende Grenzkonzentration der geprüften Verbindung ihr Minimum erreicht und wo nach erfolgter Maximalplasmolyse die Deplasmolyse eben einsetzt. Die osmotischen Koeffizienten FITTING's stellen somit die *Maximalwerte* der temporären plasmolytischen Koeffizienten dar.

Aus dem Obigen erhellt, dass die temporären plasmolytischen Koeffizienten am grössten bei solchen Verbindungen sind, die in den kleinsten Konzentrationen die Zellen plasmolysieren, d. h. bei solchen, deren plasmolysierende Wirkung am grössten ist. Besonders klar geht die plasmolysierende Wirkung der verschiedenen Verbindungen aus der graphischen Darstellung der bestimmten π-Werte hervor. Zwecks Veranschaulichung meiner Ergebnisse habe ich, auf Grund aller angestellten Versuche, die die plasmolysierende Wirkung der untersuchten Verbindungen darstellende Kurven gezeichnet.

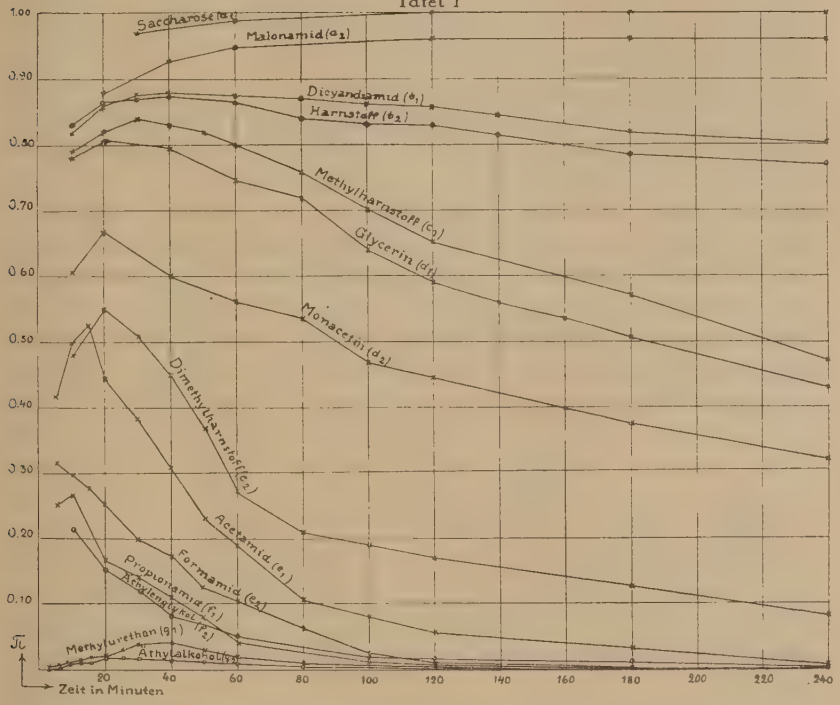
Auf Seite 39 lege ich in Form der graphischen Tafel I die Ergebnisse aus sieben vergleichenden Versuchen vor, von denen ein jeder die Bestimmung der plasmolysierenden Wirkung zweier verschiedenen Verbindungen umfasst. Diese sieben verschiedenen Plasmolyseversuche sind mit den Buchstaben a, b, c, d, e, f, und g bezeichnet; zum a-Versuch gehören die Verbindungen a_1 (Saccharose) und a_2 (Malonamid), zum b-Versuch die Verbindungen b_1 und b_2 usw. Von den Versuchen sind a und b nach dem gewöhnlichen Reihenverfahren, alle anderen nach der Methode der Partialdrucke ausgeführt.

Als Abszisse ist in der graphischen Darstellung für jede Beobachtung die vom Versuchsbeginn an abgelaufene Zeit in Minuten (5—240) eingetragen und als Ordinate die bestimmten π-Werte (0.00—1.00). Der π-Wert von Saccharose ist natürlich 1 zu den Zeitpunkten (2—4 St.), wo die maximale Plasmolyse beobachtet wurde. Die π-Werte aller anderen angeführten Verbindungen sind kleiner als die entsprechenden Saccharosewerte und weichen, wie aus der Tafel ersichtlich, stark voneinander ab. Von den angeführten Verbindungen hat, wie man findet, Saccharose die stärkste plasmolysierende Wirkung gegenüber *Rhoeo*-Zellen, Äthylalkohol die schwächste.

Prüfen wir die Kurven auf Tafel I, so bemerken wir, dass die π-Werte regelmässig während der ersten Beobachtungszeiten steigen (Ausnahmen sind

Formamid und Äthylenglykol), bis sie bei verschiedenen Verbindungen nach Ablauf verschieden langer Zeiten ihr Maximum erreichen (bei Formamid z. B. also schon vor der 10 Min.-Beobachtung) und dann anfangen, rascher oder langsamer zu sinken. (Ausnahmen: Saccharose und Malonamid, deren π-Werte während der ersten Stunden keine Abnahme zeigen.) Es ist klar, dass der Gipfelpunkt der Kurven die maximale Plasmolyse anzeigt; der aufsteigende Ast bezeichnet die Zunahme der Plasmolyse, der absteigende Ast die Deplasmolyse.

Tafel I

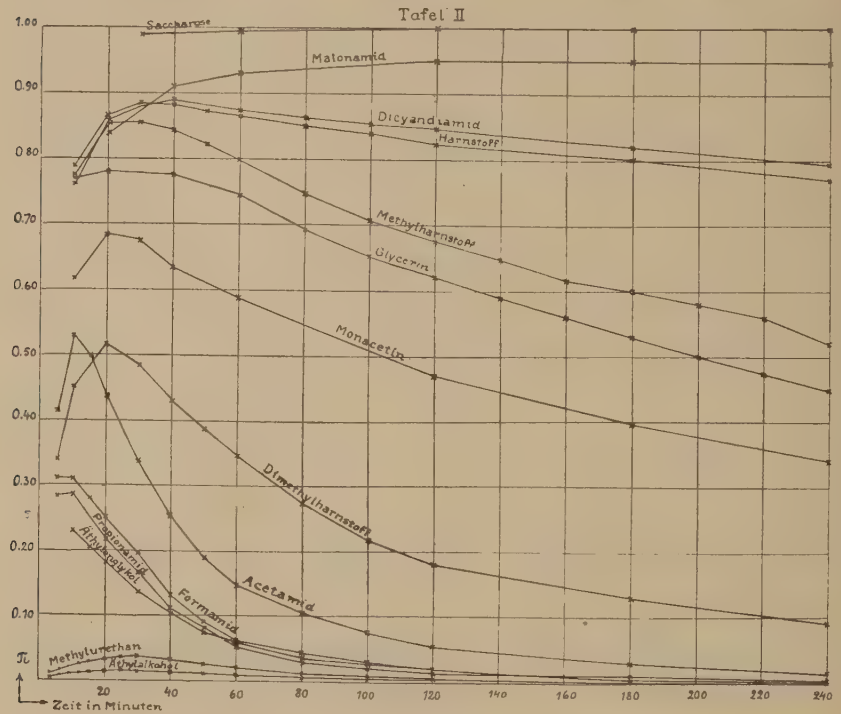


Da bloss *gleichzeitig* ausgeführte Versuche, die mit Schnitten aus *demselben* Blatt angestellt sind, streng miteinander vergleichbar sind, kann man in Tafel I nur die Kurve a_1 mit a_2, b_1 mit b_2 usw. ganz genau vergleichen. (Siehe S. 20.)

Es war also unerlässlich, alle ursprünglichen Kurven in eine miteinander vergleichbare Form zu bringen. Um dies zu erreichen, habe ich Kurven berechnet, die ich *reduzierte Kurven* nenne.

Die reduzierten Kurven zeichnete ich zunächst für Saccharose und Harnstoff. Durch Berechnung der Mittelwerte der π-Werte aus allen denjenigen ursprünglichen Saccharosekurven, die sich auf vergleichende Untersuchungen

mit Harnstoff gründeten, erhielt ich die π-Werte der reduzierten Saccharosekurve. Zugleich nahm ich als die reduzierte Harnstoffkurve den Mittelwert der Kurven, die den obigen ursprünglichen Saccharosekurven entsprachen. Diese beiden reduzierten Kurven sind vollkommen miteinander vergleichbar, da sie sich auf Versuche gründen, die unter ganz gleichen Verhältnissen gemacht wurden. Um die reduzierten Kurven der anderen von mir untersuchten Verbindungen zu erhalten, bin ich dann so verfahren, dass ich die ursprünglichen Kurven aller mit Saccharose vergleichend geprüften Verbindungen im



selben Verhältnis reduzierte, in welchem die aus diesen Versuchen erzielten Saccharosekurven zu der schon bestimmten reduzierten Saccharosekurve standen. Und genau ebenso wurden die aus jedem Versuch gewonnenen ursprünglichen Kurven der mit Harnstoff verglichenen Verbindungen in dem Verhältnis reduziert, in dem wiederum die aus diesen Versuchen erhaltenen ursprünglichen Harnstoffkurven zu der reduzierten Harnstoffkurve standen. — Nehmen wir z. B. an, in der reduzierten Harnstoffkurve sei der 1 St. entsprechende π-Wert = a. Wenn ich dann z. B. Schwefelharnstoff mit Harnstoff vergleiche und auf Grund eines bestimmten Versuches für diese Verbindungen als 1 St. entsprechende π-Werte, für erstere b_1, für letztere a_1 erhalte, so

berechne ich auf Grund dieses Versuches als reduzierten, 1 St. entsprechenden π-Wert von Schwefelharnstoff $\frac{a \cdot b_1}{a_1}$.

Niemals habe ich ein bestimmtes Verbindungspaar mit Hilfe bloss eines, wenn auch vollkommen einwandfreien Reihenversuchs geprüft, sondern ich habe mit denselben Verbindungen immer mindestens 2, meistens 3, mitunter auch 4 vergleichende Reihenversuche gemacht. Alle meine definitiven, reduzierten Kurven sind also zugleich auch die Mittelwertergebnisse mehrerer Versuche.

Diesem Kapitel mögen die reduzierten Kurven derselben Verbindungen beigefügt werden (S. 40, Tafel II), deren ursprüngliche Kurven ich auf Seite 39 dargestellt habe. Auf Grund des Gesagten sind demnach diese auf Tafel II dargestellten Kurven alle miteinander zu vergleichen, also nicht mehr nur paarweise. — Man sieht, dass die Umrechnung keine wesentlichen Veränderungen in der Lage der Kurven im Koordinatensystem bewirkt hat. Die ursprünglichen kleinen Unregelmässigkeiten in der Form derselben sind zwar teilweise eliminiert worden (z. B. Glycerin, Monacetin, Formamid, Propionamid und Äthylenglykol), aber im wesentlichen ist die Form der Kurven doch unverändert geblieben, — ein Umstand, der für meine Versuchskurven überhaupt gilt. Hätte ich die Stärke der plasmolysierenden Wirkung der aufgeführten 14 Verbindungen nur auf Grund der in Tafel I dargestellten Versuche bestimmt, so hätte ich in besagter Hinsicht als Ergebnis dieselbe Reihenfolge erzielt wie auf Grund der reduzierten Kurven.

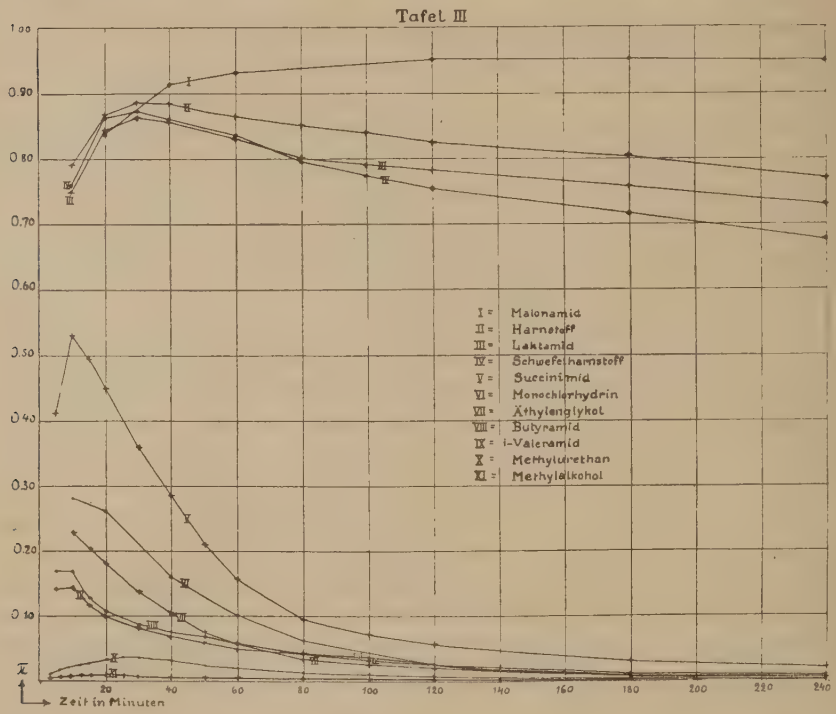
3. *Vergleich der reduzierten Plasmolysekurven.*

Um einen guten Überblick über die plasmolysierende Wirkung aller untersuchten Verbindungen auf die *Rhoeo*-Zellen zu geben, füge ich hier die noch nicht dargestellten reduzierten Kurven in vier Tafeln an, in welche ich zwecks Erleichterung des Vergleichs noch einmal auch einige bereits vorgeführte Kurven eintrage.

Auf Tafel III (Seite 42) habe ich von den stark plasmolysierenden Verbindungen Malonamid, Harnstoff, Laktamid und Schwefelharnstoff und von den ziemlich, resp. sehr schwach plasmolysierenden Succinimid, Monochlorhydrin, Äthylenglykol, n-Butyramid, i-Valeramid, Methylurethan und Methylalkohol eingestellt. Auf Tafel IV (S. 43) sind hingegen eingetragen die stark plasmolysierenden Mannit, Arabinose und Erythrit und die mässig, resp. schwach plasmolysierenden Diäthylharnstoff, Glycerinmonoäthyläther, Diacetin, Pinakonhydrat, Trimethylcitrat, Antipyrin und Triäthylcitrat.

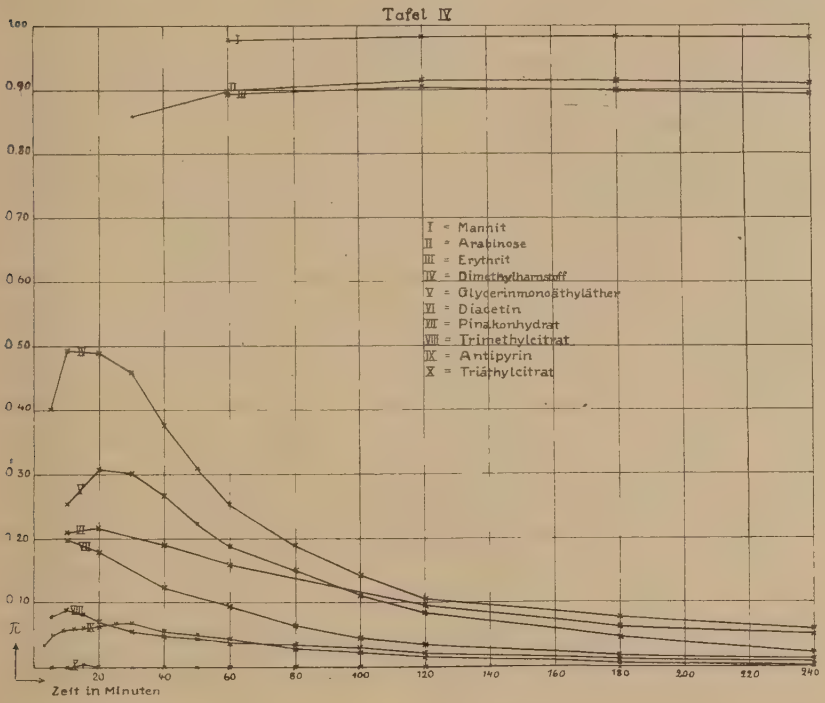
Sehr bedeutend und leicht zu erkennen ist der Unterschied in der Form der Kurven der auf Tafel III und Tafel IV aufgeführten, ziemlich schwach plas-

molysierenden Verbindungen. Auf Tafel III nähern sich die Kurven V, VI und VII sichtlich steiler der Abszisse als auf Tafel IV die Kurven IV, V, VI und VII. In dieselbe Tafel eingezeichnet würden sie sich aus diesem Grunde meistens überschneiden. — Um diesen Umstand zu illustrieren, habe ich auf Tafel V (S. 44) in ein anderes Koordinatensystem vier solcher einander schneidender Kurven noch einmal eingezeichnet, und zwar: Glycerinmonoäthyläther (I) und Formamid (II), sowie Äthylenglykol (III) und Pinakonhydrat (IV). Zu beachten ist, dass, obwohl die o-Werte der Kurvenpaare I und II annähernd



gleich gross sind, sämtliche Abschnitte der Kurve I, mit den entsprechenden Teilen der Kurve II verglichen, verspätet auftreten. Ähnlich verhalten sich auch die Kurven III und IV zueinander. Bemerkenswert ist, dass die Kurven II und III auf dieser Tafel Verbindungen repräsentieren (Formamid und Glykol), deren Molekularvolumen merklich kleiner sind als die der von den Kurven I und IV repräsentierten Verbindungen (Glycerinmonoäthyläther und Pinakonhydrat; siehe Tabelle II, S. 87). Ganz allgemein möchte ich auch, als eine auf meinen Ergebnissen basierende Beobachtung, die Behauptung aufstellen, *dass von den Plasmolysekurven zweier, ihrem Molekularvolumen nach sehr verschieden grosser Verbindungen im allgemeinen die Kurve der grös-*

sermolekularen Verbindung in allen ihren Teilen flacher, die der kleinermolekularen hingegen steiler ist, falls die o-Werte der betreffenden Verbindungen wenigstens annähernd gleich gross sind. Die Belege hierfür bieten sich schon beim Prüfen der reduzierten Kurven der ziemlich schwach plasmolysierenden Verbindungen auf den vorgeführten Tafeln. Die besten Beispiele für Verbindungen, die steile π-Kurven haben, sind Äthylenglykol (14.4)[1]), Propionamid (19.5), Formamid (10.6), Acetamid (14.9) und Succinimid (27.1). Deutlich flachkurvig sind wiederum z. B. Antipyrin (56.1), Trimethylcitrat (50.3), Pinakonhydrat



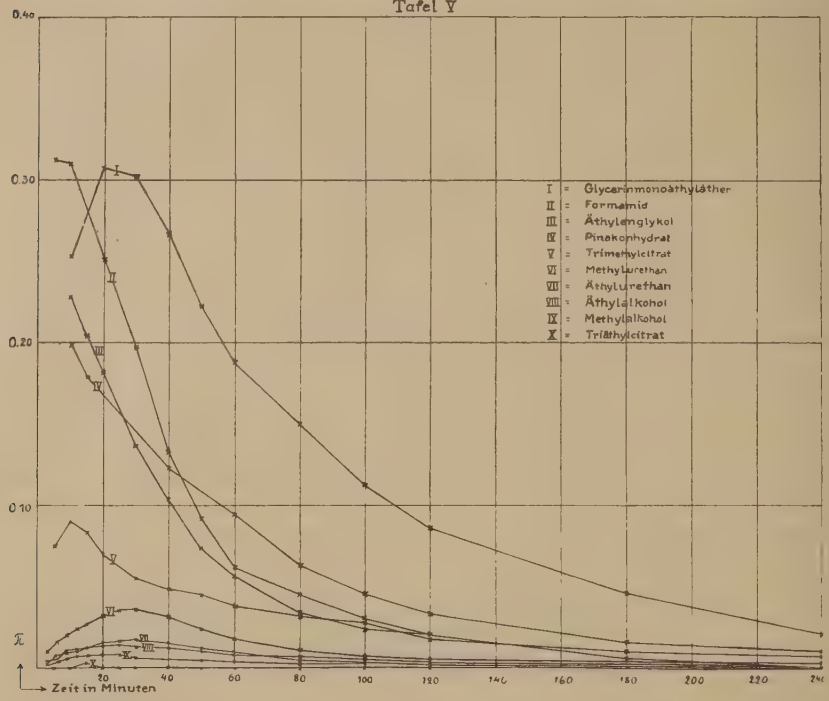
(55.3) und Diacetin (39.4), sowie in ziemlich beträchtlichem Grad Glycerinmonoäthyläther (30.0). In den Kurven sehr stark oder ganz schwach plasmolysierender Verbindungen kann man diese Züge wegen der geringen Unterschiede der aufeinanderfolgenden π-Werte nicht deutlich wahrnehmen.

Auf Tafel V sehen wir ferner die Plasmolysekurven mehrerer besonders schwach plasmolysierenden Verbindungen. Es sind dies: Trimethylcitrat, Methylurethan, Äthylurethan, Äthylalkohol, Methylalkohol und Triäthylcitrat. Die Unterschiede in der plasmolysierenden Wirkung dieser Verbin-

[1]) Die in Klammern befindlichen Zahlen geben die Molrefraktionen der betreffenden Verbindungen an.

dungen sind, wie aus den Kurven hervorgeht, sehr gering, aber trotzdem ziemlich konstant. — Die kleinsten Unterschiede hinsichtlich der plasmolysierenden Wirkung zeigen sich jedoch unter den von mir untersuchten Verbindungen bei den am stärksten plasmolysierenden. Zu diesen gehören: die mehrwertigen Alkohole Erythrit und Mannit, die Monosaccharide Arabinose und Glukose die Disaccharide Saccharose, Laktose und Maltose, die Glukoside Methylglukosid, Arbutin und Salicin, sowie auch Malonamid. Auf Tafel VI, S. 45, sind die Kurven besonders stark plasmolysierender Verbindungen nebst der

Tafel V



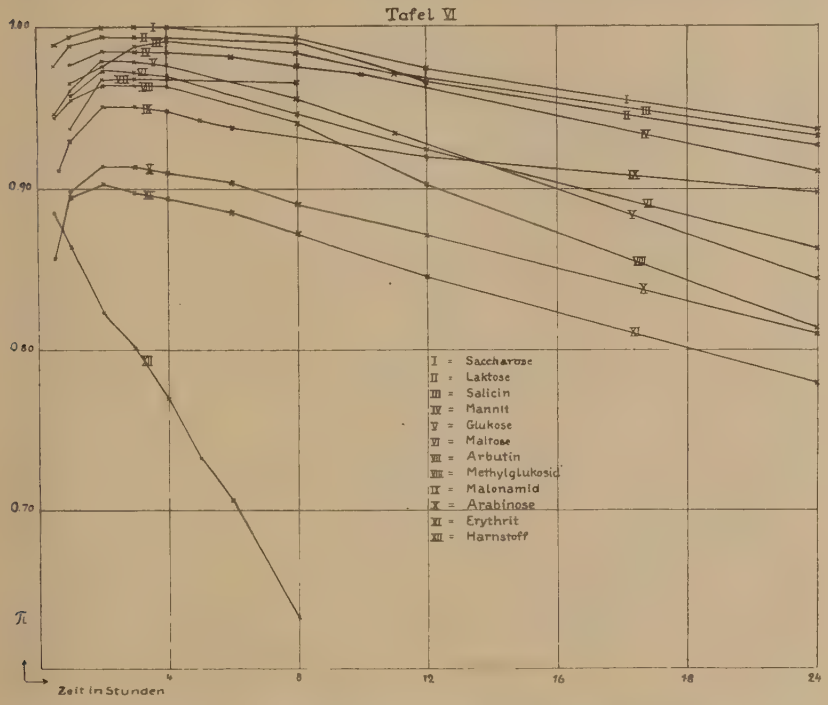
Harnstoffkurve eingezeichnet. Das Koordinatensystem ist auf dieser Tafel so abgeändert, dass auch kleine Unterschiede in den π-Werten der verschiedenen Verbindungen sichtbar werden; ausserdem ist der Kurvenverlauf wegen der langsamen Deplasmolyse bis zu 24 St. dargestellt.

4. *Einfluss der Lösungskonzentration auf die Grösse der π-Werte.*

Bei der Bestimmung der π-Werte verschiedener Verbindungen muss man aus praktischen Gründen einige Stoffe in grösseren, andere in kleineren Konzentrationen verwenden. Es war folglich wichtig und schon an und für sich

interessant, nachzusehen, ob die Konzentration der zu untersuchenden Verbindung in den Lösungsreihen irgendeinen Einfluss auf die Grösse der gefundenen π-Werte hat.

Für diese Spezialuntersuchung wählte ich zunächst drei solche Verbindungen, von denen ich jede zu gleicher Zeit sowohl unter Anwendung des gewöhnlichen Reihenverfahrens wie der Methode der Partialdrucke vergleichend untersuchen konnte, nämlich Harnstoff, Methylharnstoff und Glycerin. Da jedoch diese Verbindungen die *Rhoeo*-Zellen verhältnismässig gleich

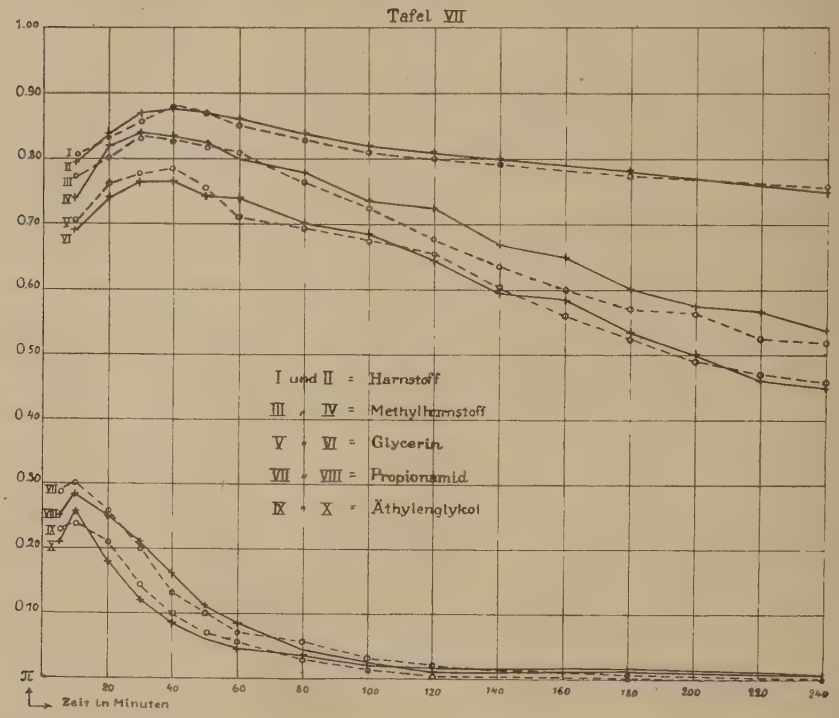


stark plasmolysieren, untersuchte ich ausserdem noch Propionamid und Äthylenglykol unter alleiniger Anwendung der Methode der Partialdrucke, aber diese so, dass die konstanten Konzentrationen der untersuchten Verbindung in den beiden Lösungsreihen ungleich gross waren. Ich führe hier zur Erläuterung die in jedem der verschiedenen Versuche von mir benutzten Konzentrationen an:

1) *Harnstoff* (S. 46, Tafel VII; Kurven I u. II). Kurve I ist das Ergebnis aus dem Versuch nach der Methode der Partialdrucke, bei dem die Harnstoffkonzentration in allen Lösungen 0.100 GM war. Kurve II zeigt den gleichzeitigen, gemäss dem gewöhnlichen Reihenverfahren gemachten Versuch, wo-

bei die betreffenden Harnstoffkonzentrationen 0.170—0.280 GM waren. Auf Tafel VII sind die π-Werte dieser Versuche nur bis 4 St. vermerkt; doch setzte ich den Versuch 10 St. fort und ermittelte zuletzt die π-Werte 0.542 für Kurve I und 0.566 für Kurve II.

2) *Methylharnstoff* (Kurven III u. IV). Kurve III ist mittels der Methode der Partialdrucke gewonnen; die Methylharnstoffkonzentration war dabei 0.200 GM. Kurve IV wiederum ist das Ergebnis eines mit dem gewöhn-



lichen Reihenverfahren ausgeführten Versuchs, bei dem die Konzentrationen 0.200—0.400 GM waren. Diesen Versuch setzte ich 8 St. fort, wobei der π-Wert der Kurve III zuletzt = 0.330 und der π-Wert der Kurve IV = 0.359 war.

3) *Glycerin* (Kurven V u. VI). Kurve V mittels der Methode der Partialdrucke gewonnen, Glycerinkonzentration dabei 0.200 GM; Kurve VI mittels des gewöhnlichen Reihenverfahrens, Glycerinkonzentrationen 0.240—0.480 GM. Der eigentliche Versuch innerhalb 4 St. ausgeführt.

4) *Propionamid* (Kurven VII u. VIII). Beide mit der Methode der Partialdrucke gewonnen, in dem Kurve VII entsprechenden Versuch war die

Propionamidkonzentration 0.500 GM, in dem Kurve VIII entsprechenden 0.200 GM. Dauer des eigentlichen Versuchs: 4 St.

5) *Äthylenglykol* (Kurven IX u. X). Beide Versuche mit der Methode der Partialdrucke ausgeführt. Kurve IX stellt das Ergebnis aus dem Versuch dar, in welchem die Äthylenglykolkonzentration 0.500 GM war, und Kurve X aus dem Versuch, in welchem die Konzentration 0.200 GM war. Eigentliche Versuchsdauer: 4 St.

Ausserdem versuchte ich noch, die Äthylenglykoluntersuchung parallel mit der Methode der Partialdrucke (Konzentration 0.200 GM) und dem gewöhnlichen Reihenverfahren auszuführen. Bei Anwendung des letzteren stiegen die Äthylenglykolkonzentrationen jedoch so hoch (0.500—2.000 GM), dass bei der Nachuntersuchung des folgenden Tages nur die Schnittzellen der schwächsten Lösungen (0.500—0.600 GM) lebend waren. In diesem Versuch sah ich bei Anwendung des gewöhnlichen Reihenverfahrens (also grösserer Konzentrationen) die Deplasmolyse sich verlangsamen. Z. B. nach 1 St. erhielt ich als π-Werte entsprechend 0.072 und 0.148. Das liesse sich z. B. so erklären, dass das Äthylenglykol in zu grossen Konzentrationen das Protoplasma derartig beschädigt, dass Exosmose aus den Zellen stattfindet; wenn der ursprüngliche osmotische Wert des Zellsafts auf die Weise sich verkleinert, so verlangsamt sich natürlich auch die Deplasmolyse.

Bei Prüfung der auf Tafel VII zusammengestellten Kurven muss man zugeben, dass sie, paarweise verglichen: I u. II, III u. IV, V u. VI, VII u. VIII, IX u. X (sie sind nicht reduziert, folglich nicht alle miteinander vergleichbar), sehr schön übereinstimmen. Die grössten Abweichungen treten in den Methylharnstoffkurven zu Tage (100′—240′); aber auch diese Kurven stimmen dennnoch so gut, dass keiner der ermittelten Werte die der plasmolysierenden Wirkung dieser Verbindung gemässe Stellung zu den anderen untersuchten Verbindungen verändern würde. Auf Grund dieser Versuche möchte ich die Behauptung aufstellen, *dass die plasmolytisch bestimmten π-Werte der von mir untersuchten Verbindungen von der für den Versuch angewandten Konzentration der betreffenden Verbindung unabhängig sind.* Dies aber nur in dem Fall, dass bei den Versuchen allzu grosse, die Zellen schädigende Konzentrationen vermieden werden. Dieses Ergebnis ist erstens in methodischer Hinsicht von Wichtigkeit, denn es erlaubt mir, die erzielten Ergebnisse miteinander zu vergleichen, ungeachtet der angewandten verschieden grossen Konzentrationen und unabhängig davon, ob dieselben mittels des gewöhnlichen Reihenverfahrens oder der Methode der Partialdrucke gewonnen sind.

Aus dem Umstand, dass die π-Werte der untersuchten Verbindungen von den angewandten Konzentrationen unabhängig sind, folgt weiter, falls man nicht zu ganz unwahrscheinlichen Hilfshypothesen greifen will, *dass die*

während der Zeiteinheit in die Rhoeo-Zellen permeierten Mengen der Konzentration der Aussenlösung proportional sein müssen.[1]) Dies deutet darauf hin, dass die untersuchten Verbindungen, den allgemeinen Diffusionsgesetzen folgend, in die Zellen eindringen. Diesen Umstand werde ich später an neuen, besonderen Beispielen erläutern (S. 64—77).

III. Permeabilitätsuntersuchungen.

A. Inwieweit kann man aus den Plasmolysekurven Schlüsse auf die Permeiergeschwindigkeit und auf das Permeiervermögen ziehen?

Im vorhergehenden Teil wurde betont, dass die plasmolytischen Koeffizienten, und somit auch die Plasmolysekurven, sich ausschliesslich auf rein experimentell beobachtete Tatsachen gründen. Es steckt also in ihnen nichts Hypothetisches. Ganz anders sieht sich jedoch die Sache an, sobald man anfängt, aus den erhaltenen Plasmolysekurven Schlussfolgerungen auf das Permeieren der untersuchten Verbindungen zu ziehen. Im folgenden wollen wir versuchen, uns einen Begriff davon zu bilden, wieweit sich die Plasmolysekurven zu diesem Zweck verwenden lassen.

Wir wollen von einem bestimmten Beispiel ausgehen: Nehmen wir an, wir hätten festgestellt, dass der Zuckerwert des Zellsaftes der Epidermiszellen eines *Rhoeo*-Blattes 0.200 GM ist. Bringen wir nun die Schnitte dieses Blattes z. B. in eine Harnstoffreihe, so konstatieren wir, dass die plasmolysierende Grenzkonzentration des Harnstoffs nach Verlauf einer Stunde z. B. 0.230 GM ist und nach 2 Stunden z. B. 0.260 GM. Warum ist nun zum Zustandebringen der Grenzplasmolyse eine grössere Harnstoff- als Saccharosekonzentration nötig, und warum nimmt die plasmolysierende Grenzkonzentration des Harnstoffs während des Versuchs dauernd zu? Offenbar u. a. deshalb, weil die untersuchten Protoplasten gegenüber der Harnstofflösung nicht so semipermeabel sind wie gegenüber der Saccharoselösung. Der Harnstoff permeiert ununterbrochen durch das Protoplasma in den Zellsaft, und infolgedessen nimmt die plasmolytische Grenzkonzentration der Zellen immer mehr und mehr zu. Unter solchen Umständen liegt natürlich auch der Gedanke nahe, aus der zeitlichen Veränderung der plasmolysierenden Grenzkonzentration zu berechnen zu suchen, mit welcher Geschwindigkeit der Harnstoff in die Zelle permeiert. Da beobachtet wurde, dass die plasmolysierende Grenzkonzentration in unserem Beispiel nach einer Stunde 0.230 GM war, könnte man

[1]) An der Richtigkeit dieses Ergebnisses kann ich nicht zweifeln trotz der gegenteiligen Angabe FITTING's (17, S. 118), wonach aus geringeren Glycerinkonzentrationen verhältnismässig mehr Glycerin in die *Rhoeo*-Zellen aufgenommen werden soll als aus höheren.

annehmen, dass während der ersten Versuchsstunde $0.230—0.200 = 0.030$ GM Harnstoff in die Zelle permeiert ist. Ist nach zwei Stunden die plasmolysierende Grenzkonzentration 0.260 GM, so würde dies vielleicht bedeuten, dass bis zu diesem Zeitpunkt im ganzen $0.260—0.200 = 0.060$ GM Harnstoff permeiert wäre usw. Oder allgemein formuliert: die im Zellsaft jeweils herrschende Konzentration, x, der permeierenden Verbindung, in Prozenten der Aussenlösungskonzentration ausgedrückt, würde sein:

$x = \frac{100\,(C_1 - C)}{C_1}$, worin C der ursprüngliche osmotische Wert des Zellsaftes im Grenzplasmolysezustand und C_1 die nach einer bestimmten Zeit festgestellte plasmolysierende Grenzkonzentration der untersuchten Verbindung (im obigen Beispiel Harnstoff) ist. Bei Anwendung der Methode der Partialdrucke wäre dementsprechend $x = \frac{100\,[C_1 - (C - c)]}{C_1}$, worin c die Saccharosekonzentration der grenzplasmolytischen Lösung darstellt.

Überlegen wir uns aber die Sache genauer, so werden wir leicht bemerken, dass der obige Schluss *nur in dem Fall richtig ist, dass ganz bestimmte Bedingungen erfüllt sind.* Diese Bedingungen sind:

1) dass die Konzentration der plasmolysierenden Verbindung unmittelbar ausserhalb der äusseren Plasmahaut während der ganzen Versuchszeit ebenso gross ist wie in der übrigen Aussenlösung;

2) dass äquimolekulare Lösungen von Nichtelektrolyten (in unserem Beispiel Saccharose- und Harnstofflösung) untereinander genau isosmotisch sind;

3) dass die osmotische Wirkung der gelösten Verbindung ausschliesslich davon abhängt, wie gross ihre Konzentration an der Aussenfläche der Protoplasten ist und demnach nur mittelbar, aber keineswegs unmittelbar davon abhängt, inwieweit das Plasma sie durchlässt;

4) dass das Protoplasma die ganze Versuchszeit hindurch leicht beweglich ist, so dass schon eine minimale Kraft hinreicht, um es von der Zellmembran abzuheben, und ebenso, um es während der Deplasmolyse auszudehnen;

5) dass die Zellsaftkonzentration sich während des Versuchs nicht unter dem Einfluss von Anatonose-, Katatonose- oder Exosmoseprozessen verändert;

6) dass die osmotische Wirksamkeit der in die Zelle eingedrungenen, plasmolysierenden Verbindung (in unserem Beispiel des Harnstoffs) sich in der Zelle weder vergrössert noch verringert;

7) falls der Versuch unter Anwendung der Methode der Partialdrucke ausgeführt worden ist, muss man ausserdem annehmen, dass der dazu angewandte Zucker während des Versuchs gar nicht in die Zellen permeiert.

Untersuchen wir nun der Reihe nach, inwieweit die obigen Vorbedingungen bei meinen Versuchen realisiert worden sind:

1) Der erste Umstand, der bei plasmolytischen Versuchen die mathematisch genaue Bestimmung der Permeiergeschwindigkeit unmöglich macht, ist der, dass die untersuchte Verbindung direkt ausserhalb der Aussenfläche der Protoplasten in einer unbekannten, meist etwas kleineren Konzentration als in der übrigen Aussenlösung vorhanden ist. Deshalb muss man auch, wenn man die erhaltenen Plasmolysekurven prüft und aus ihnen folgert, mit wie grosser Geschwindigkeit die untersuchten Verbindungen durch die Protoplasten dringen, sich zumal dem Anfangsteil der Plasmolysekurven gegenüber mit äusserster Vorsicht verhalten. Es ist nämlich klar, dass das allmähliche Ansteigen der Kurven bis zu einem gewissen Höchstpunkt eben hauptsächlich davon abhängt, dass die Diffusion der untersuchten Verbindungen aus der Aussenlösung durch das Gewebe bis an die äussere Plasmahaut der beobachteten Zellen eine bestimmte, für die verschiedenen Verbindungen verschieden lange Zeit in Anspruch nimmt. Aber auch noch nachdem der Gipfelpunkt der Plasmolysekurve erreicht oder sogar bereits passiert ist, wird die Konzentration dicht an der Aussenfläche der Protoplasten meistens kleiner als in der übrigen Aussenlösung sein, sofern der Stoff merklich durch das Protoplasma permeiert.

Diese Fehlerquelle wirkt auf alle untersuchten Verbindungen in gleicher Richtung, d. h. sie erweckt den Anschein, als ob, vor allem während der Anfangszeit des Versuchs, von jeder Verbindung grössere Mengen in die Zellen eingedrungen wären, als tatsächlich der Fall ist. In quantitativer Hinsicht aber ist der Einfluss dieser Fehlerquelle in bezug auf verschiedene Verbindungen sehr ungleich, wie weiterhin näher auseinandergesetzt werden wird. Schon hier möge erwähnt werden, dass der Einfluss dieser Fehlerquelle, wie leicht einzusehen ist, desto grösser ist, 1) je rascher eine Verbindung durch das Plasma permeiert, und 2) je langsamer sie durch die Zellwand bis an die Aussenfläche des Protoplasmas diffundiert.

In diesem Zusammenhang sei noch auf eine hypothetische Fehlerquelle aufmerksam gemacht. Es liesse sich denken, dass die lipoidlöslichen Verbindungen möglicherweise durch die für lipoidunlösliche Verbindungen undurchlässige Kutikula in die Epidermiszellen dringen würden, wodurch vielleicht Unterschiede hinsichtlich des Vermögens lipoidlöslicher und -unlöslicher Stoffe, durch das Plasma zu permeieren, vorgetäuscht werden könnten. Dass die Diffusion auch der lipoidlöslichen Verbindungen wenigstens fast ausschliesslich auf denselben Wegen erfolgen muss wie die anderer Stoffe, also nicht durch die Kutikula, können wir jedoch feststellen, wenn wir die Art prüfen, wie die Zellen der *Rhoeo*-Schnitte in hypertonischen Lösungen lipoidlöslicher Verbindungen plasmolysiert werden. Hierbei fängt nämlich die Plasmolyse niemals weder mitten im Schnitte an, noch findet sie in sämtlichen Epidermiszellen gleichzeitig statt, wie man, falls die Kutikula die lipoidlöslichen Ver-

bindungen leicht durchliesse, erwarten würde; vielmehr beginnt die Plasmolyse ganz regelmässig — wir können wohl sagen: immer — von den Randzellen des Schnittes aus und schreitet von ihnen aus allmählich nach den Epidermiszellen des Mittelpunktes zu fort. Dieselbe Beobachtung machte auch POIJÄRVI hinsichtlich des Eindringens von lipoidlöslichen Stickstoffbasen in *Rhoeo*-Schnitte (55). — In keinem Fall kann die beobachtete, grössere Permeiergeschwindigkeit lipoidlöslicher Verbindungen daher rühren, dass sie auch durch die Kutikula gehen. Sollten sie während des Versuchs auch wirklich den besagten Weg bis zur Plasmahaut genommen haben, so würde sich ihr plasmolysierender Einfluss dabei im Anfang des Versuchs als stärker erwiesen haben als in dem Fall, dass sie bis zu den Plasmahäuten nur auf denselben Wegen diffundiert wären wie auch die nichtlipoidlöslichen Verbindungen. Die Plasmolysekurven von lipoidlöslichen Verbindungen würden sich im angenommenen Fall in allen ihren Teilen steiler gestaltet haben, d. h. sowohl die Plasmolyse wie die Deplasmolyse wären verhältnismässig zu stark erfolgt, aber eine zu grosse Permeiergeschwindigkeit dieser Stoffe würde hierdurch *nicht* vorgetäuscht werden.

2) Vorhin wurde bereits hervorgehoben, dass bei den ausgeführten Plasmolyseversuchen ganz allgemein volumnormale Lösungen angewandt worden sind, trotzdem der osmotische Druck eher der Gewichtsnormalität der Lösungen proportional ist (57). Später, beim Auslegen meiner Ergebnisse (S. 89), rechne ich deshalb die mit volumnormalen Lösungen erzielten o-Werte der langsam permeierenden Verbindungen auf Gewichtsnormalität um.

Bei schnell permeierenden Stoffen ist eine derartige Umrechnung wegen anderer, viel grösserer Fehlerquellen überflüssig: so z. B. lässt sich ja die Konzentration der Lösung an der Aussenfläche der Protoplasten nur sehr wenig genau angeben.

Aber auch wenn man gewichtsnormale Lösungen in Betracht zieht, muss man sich bewusst sein, dass die osmotischen Gesetze VAN'T HOFF's nicht genau für reale, sondern nur für ideale Lösungen stimmen. — Die von mir bestimmten plasmolytischen Koeffizienten weichen jedoch, wenn man die Gesamtheit der untersuchten Verbindungen überblickt, so stark voneinander ab, dass diese Fehlerquellen die grossen Züge meiner Untersuchungen nicht haben erheblich beeinflussen können. Wohl aber sind diese Fehlerquellen zu berücksichtigen, wenn es gilt, die Permeiergeschwindigkeiten sehr langsam eindringender Stoffe miteinander zu vergleichen. Ich komme deshalb später bei der Betrachtung der Plasmolysekurven langsam permeierender Verbindungen noch auf diese beiden Einwände zurück (S. 89).

3) Es leuchtet ohne weiteres ein, dass die schwächere plasmolytische Wirkung einer permeierenden Verbindung, verglichen mit derjenigen eines nicht eindringenden Stoffes, zum Teil davon herrührt, dass infolge der Permeation

der Konzentrationsunterschied zwischen Zellsaft und Aussenlösung vermindert wird. Aber auch nur zum Teil. Besonders wenn man die Sache vom molekularkinetischen Standpunkt aus betrachtet, sieht man leicht ein, dass die Grösse des in Erscheinung tretenden osmotischen Druckes von den Permeabilitätseigenschaften der in Frage kommenden Membran *direkt* abhängig sein muss, d. h. der an einer nicht ganz semipermeablen Membran gemessene osmotische Druck muss hinter der theoretisch berechneten Druckgrösse zurückbleiben, auch wenn es durch geeignete Einrichtungen gelänge, den Konzentrationsunterschied zwischen den Flüssigkeiten zu beiden Seiten der Membran unverändert zu halten. Vgl. TAMMANN (76), LEPESCHKIN (32; 35—36) und v. ANTROPOFF (1). (Die gegenteilige Ansicht BLACKMAN's (2), ist nicht haltbar.) Dabei kommt es nicht, wie TAMMANN und LEPESCHKIN angenommen haben, bloss auf die Durchlässigkeit der Membran für den gelösten Stoff an, sondern auch auf ihre Permeabilität für das Lösungsmittel, wie v. ANTROPOFF in seiner von den Physiologen viel zu wenig beachteten Arbeit dargelegt hat.

Nach v. ANTROPOFF haben wir uns die Sache folgendermassen vorzustellen: Der theoretische, auf Grund der Gasgesetze berechnete osmotische Druck (der VAN'T HOFF'sche Druck) tritt nur dann in Erscheinung, wenn die Lösung an eine ideale semipermeable Membran grenzt, d. h. an eine Membran, die für den gelösten Stoff vollkommen undurchlässig, für das Lösungsmittel dagegen ganz frei durchlässig ist. Für alle realen Membranen gilt dagegen die Gleichung:

$$P_m = P\,\frac{\sigma - \sigma_1}{\sigma} = P\left(1 - \frac{\sigma_1}{\sigma}\right),$$

worin P_m den experimentell zu messenden Druck, P den theoretischen VAN'T HOFF'schen Druck, σ die Durchlässigkeit der Membran für das Lösungsmittel und σ_1 ihre Durchlässigkeit für den gelösten Stoff bedeutet.

Versuchen wir das Obengesagte auf die ausgeführten Plasmolyseversuche anzuwenden, so ist zu beachten, dass die Permeabilität der Protoplasten für Wasser offenbar sehr gross und zwar vermutlich in allen ausgeführten Versuchen ungefähr gleich gross ist, so dass also der σ-Wert in der obigen Gleichung gross, aber trotzdem noch endlich ist. Aber je rascher auch das Permeieren der untersuchten Verbindung durch die Plasmahaut stattfindet, einen desto grösseren Wert bekommt der Ausdruck $\frac{\sigma_1}{\sigma}$, und desto mehr bleibt somit die beobachtete osmotische Wirksamkeit (d. h. die plasmolytische Wirkung) hinter der theoretisch berechneten zurück. Diese Fehlerquelle macht sich also in allen ausgeführten Versuchen in derselben Richtung, aber in ungleichem Grade bemerkbar, d. h. ihr zufolge sind alle auf die Plasmolysekurven sich gründenden Masszahlen der Permeiergeschwindigkeit zu gross, und dies

am meisten bei den am raschesten permeierenden Stoffen. Die auf den Plasmolysekurven basierende Reihenfolge der Permeiergeschwindigkeiten der untersuchten Verbindungen kann jedoch durch diesen Umstand nicht gestört werden; unter seiner Einwirkung senken sich nur die Kurven im Koordinatensystem alle weiter nach unten und rücken z. T. mehr auseinander.

4) Hier ist die Möglichkeit zu erwägen, dass die *Rhoeo*-Protoplasten, wenn man sie lange in plasmolysiertem Zustande in den verschiedenen Lösungen hält, in irgendeiner Weise ihre ursprüngliche Ausdehnungsfähigkeit einbüssen können. So hat z. B. KÜSTER festgestellt, dass plasmolysierte *Allium*-Zellen in 1-norm. Saccharoselösung nach dreimal 24-stündiger Behandlung eine neue Zellmembran um das zusammengezogene Plasma bilden. Nach nur einer 24-stündigen Behandlung konnte er freilich diese Erscheinung niemals beobachten (30, S. 694). (Vgl. auch BRENNER 3, S. 80.) Ferner hat KÜSTER an *Allium*-Epidermiszellen beobachtet, dass die Plasmahäute nach einer vielstündigen Behandlung, z. B. in 1-norm. Kalciumnitrat- und auch in Saccharoselösung (29; 21, S. 407—408), deutlich steif werden.

Dass diese Fehlerquelle meine Versuchsresultate nicht beeinflusst haben dürfte, scheint u. a. aus dem Umstand hervorzugehen, dass ich bei den Nachbeobachtungen festgestellt habe, dass die plasmolysierten Zellen, wenn sie gesund sind, in Leitungswasser deplasmolysiert werden können, und ferner auch daraus, dass der Deplasmolysevorgang in Saccharose auch während langdauernder Versuche nicht aufhörte, sondern so lange stattfand, wie der Versuch fortgesetzt wurde. Um die Frage weiter zu klären, habe ich ein paar Sonderversuche angestellt.

Zuerst bereitete ich eine Saccharoselösungsreihe, in der die Schnitte 22 Stunden lagen, und bestimmte dann die dieser Zeit entsprechende plasmolysierende Grenzkonzentration (0.162 GM). Hierauf brachte ich die in der Lösungsreihe gewesenen Schnitte in andere Lösungen derselben Reihe. Z. B. wurde der Schnitt der Lösung 0.140 in die Lösung 0.160 gelegt, der Schnitt der Lösung 0.190 in 0.155 usw., ganz ohne irgendwelche bestimmte Reihenfolge. Zwei Stunden später bestimmte ich die plasmolysierende Grenzkonzentration von neuem, die unverändert gefunden wurde. Folgender Protokollauszug erläutert den Versuch:

Versuch Nr. 253.

	0.140	0.145	0.150	0 155	0.160	0.165	0.170	0.175	0.180	0.185	0.190	C_1
22 St.	0	0	0	0	1/3	∞	pl	pl	pl	pl	pl	0.162
24 St.	0	0	0	gv	1/3	2/3-∞	pl	pl	pl	pl	pl	0.162

Aus dem Ergebnis geht klar hervor, wie empfindlich die plasmolysierten Protoplasten auch sehr kleinen Konzentrationsunterschieden gegenüber noch nach 22-stündiger Saccharosebehandlung sind. Auch dieser Versuch ist somit

geeignet zu erhärten, was bereits im Vorhergehenden über die hervorragende Eignung der *Rhoeo*-Zellen für grenzplasmolytische Versuche gesagt worden ist. — Den obigen Versuch führte ich ausser mit Saccharose auch mit Malonamid aus. Dabei erhielt ich nach 22 St. als plasmolysierende Grenzkonzentration 0.159 und als den 24 Stunden entsprechenden Wert 0.160. Der Unterschied ist demnach nur 0.001 GM Malonamid! Und auch dieser minimale Unterschied kann aus dem langsamen Permeieren des Malonamids in die Zellen innerhalb von 2 Stunden herrühren. Die Empfindlichkeit der *Rhoeo*-Zellen gegenüber kleinen Druckunterschieden nimmt also nicht während einer 22-stündigen Saccharose- oder Malonamidbehandlung ab, wenn auch die Zellen während dieser Zeit sich plasmolysiert in den Lösungen der betreffenden Verbindungen befinden.

Verhältnismässig oft wird auch in der Permeabilitätsliteratur auf die Fehlermöglichkeit hingewiesen, die bei den Grenzkonzentrationsbestimmungen aus dem Festhaften des Plasmas an der Zellmembran und dem daraus entspringenden Widerstand beim Plasmolysiertwerden der Zellen entstehen kann. Dass die Protoplasten der *Rhoeo*-Zellen tatsächlich an der Innenfläche der Membran festhaften, davon kann man sich beim Betrachten schwachplasmolysierter Zellen leicht überzeugen. Dabei kann man nämlich häufig feststellen, dass das Plasma sich an irgendeinem vorspringenden Eckteil der Zelle von der Zellmembran losgelöst hat und als ein nach innen eingedelltes dünnes Häutchen erscheint. Das Festhaften des Plasmas an der Membran bewirkt theoretisch, dass die plasmolytisch festgestellten Grenzkonzentrationen zu hoch ausfallen. Dass dieser Umstand jedoch bei den angestellten Versuchen keine erhebliche Bedeutung gehabt hat, scheint bereits aus den obenerwähnten Grenzkonzentrationsbestimmungen mit Malonamid und Saccharose (S. 53) hervorzugehen.

Am allerdeutlichsten zeigen jedoch folgende Versuche, die speziell zur Bestimmung der Grösse der Adhäsion der Protoplasten ausgeführt wurden, dass diese Fehlerquelle praktisch gar nicht in Frage kommt. Ich bereitete eine um 0.004 GM abgestufte Saccharosereihe, mit deren Hilfe ich den osmotischen Wert der Zellen einer Schnittserie nach zweistündigem Verweilen in den Zuckerlösungen bestimmte. Dieser osmotische Wert (C_1) wurde im ersten derartigen Versuch gleich 0.189 GM gefunden. Hiernach wurden *dieselben* Schnitte in einer schwach hypertonischen Saccharoselösung (0.220 GM) im Verlauf einer halben Stunde plasmolysiert, wonach sie in die ursprüngliche Saccharosereihe zurückversetzt wurden, so dass jeder einzelne Schnitt in dieselbe Lösung kam, worin er sich bei der ersten Bestimmung der Grenzkonzentration befand. Jetzt wurde die Grenzkonzentration von neuem nach 2 Stunden bestimmt. Ihr Wert (C_2) war jetzt wiederum 0.189 GM. (Obwohl diese Befunde ja eigentlich schon genügt hätten, wurden die Schnitte dann

unter genauer Beibehaltung ihrer Reihenfolge in Leitungswasser gebracht, wo sie nach einer halben Stunde vollständig deplasmolysiert waren. Nachdem sie hiernach wieder 2 St. in der Zuckerserie gelegen hatten, bestimmte ich die plasmolysierende Grenzkonzentration (C) zum drittenmal. Sie wurde wiederum gleich 0.189 GM gefunden.) Das Protokoll lautet:

Versuch Nr. 315.

	0.176	0.180	0.184	0.188	0.192	0.196	0.200	Pl. Gr.	
I	0	gv	v	1/3-1/2	∞	pl	pl	0.189	(=C_1)
II	0	0	v	1/3	∞	pl	pl	0.189	(=C_2)
III	0	gv	v	1/3	∞-pl	pl	pl	0.189	(=C_3)

Es sei hervorgehoben, dass in sämtlichen Versuchen dieser Art die Plasmolysegrade durch genaues Zählen der plasmolysierten und unplasmolysierten Zellen bestimmt wurden.

Es wurden im ganzen fünf derartige Versuche ausgeführt. Dabei wurden folgende plasmolysierende Grenzkonzentrationen gefunden: Versuch 315: $C_1 = 0.189$, $C_2 = 0.189$, $C_3 = 0.189$. Versuch 316: $C_1 = 0.210$, $C_2 = 0.211$, $C_3 = 0.211$. Versuch 317: $C_1 = 0.182$, $C_2 = 0.182$, $C_3 = 0.182$. Versuch 318: $C_1 = 0.208$, $C_2 = 0.209$, $C_3 = 0.209$. Versuch 319: $C_1 = 0.178$, $C_2 = 0.178$, $C_3 = 0.178$.

Wir sehen somit eindeutig klar, dass die Kraft, womit das Protoplasma der Epidermiszellen von *Rhoeo* an den Zellwänden haftet, so ausserordentlich gering ist, dass sie bei der Bestimmung der plasmolysierenden Grenzkonzentration keine Fehler verursacht.

5) Sehr häufig finden wir in der Permeabilitätsliteratur die *Katatonose-* (21, S. 413) und die *Exosmoseerscheinung* als Fehlerquellen bei Plasmolyseuntersuchungen erwähnt. Zumal Stiles betrachtet die eventuell aus den Zellen erfolgende Exosmose als eine besonders gefährliche Fehlerquelle für die quantitativen Permeabilitätsbestimmungen auf plasmolytischem Wege und kritisiert gerade in diesem Punkt z. B. Tröndle's, Lepeschkin's, Fitting's und Höfler's Untersuchungen (73, S. 172—175). — Sowohl Katatonose wie auch Exosmose würden in derselben Richtung wirken: sie würden den osmotischen Wert der Zellen herabsetzen. Dass ein solches Sinken des ursprünglichen osmotischen Wertes des Zellsaftes in meinen Versuchen im allgemeinen nicht stattgefunden hat, davon zeugen die auf S. 87 darzulegenden Beobachtungen, aus denen hervorgeht, dass sich die π-Kurven, soweit untersucht, ganz allgemein asymptotisch der 0-Linie nähern, dieselbe aber nicht merklich überschreiten, was dagegen der Fall wäre, wenn Katatonose- oder Exosmoseprozesse mit im Spiel wären. Auf Grund der betreffenden Nachbeobachtungen halte ich mich somit für berechtigt, sowohl die Katatonose wie die Exosmose als für meine Versuche einflusslose Faktoren zu betrachten. — Aus demselben Grund kann ich auch die Folgerung ziehen,

dass auch die *Anatonoseerscheinungen* (21, S. 413) meine Versuche nicht beträchtlich gestört haben können. In diesem Fall würde ja wieder der ursprüngliche osmotische Wert des Zellsaftes während der Versuche steigen, — ein Umstand, der auch bei Anstellung der obenerwähnten, wichtigen Nachbeobachtungen festgestellt worden wäre.

6) Der letzterwähnten Fehlerquelle schliesst sich die Möglichkeit an, dass die in die Zellen eingedrungenen Verbindungen hier so verändert werden könnten — z. B. durch eine chemische Reaktion oder durch Adsorption an irgendwelche Zellbestandteile —, dass hierdurch ihre osmotische Wirksamkeit entweder verkleinert oder vergrössert wird. In diesem Falle wird eine zu schnelle, in jenem Falle eine zu langsame Permeation vorgetäuscht. Auch diese Möglichkeit zieht STILES (73 u. 74) als störenden Faktor bei Permeabilitätsuntersuchungen in Betracht. Dem erhobenen Einwurf gegenüber ist es wohl unmöglich, ganz sichere Beweise in Hinsicht auf die grenzplasmolytischen Versuche beizubringen. Folgende Umstände machen jedoch die fraglichen Veränderungen in den hier geschilderten Versuchen recht unwahrscheinlich:

a) Der mikroskopischen Untersuchung zufolge haben die untersuchten Verbindungen im Zellsaft keine Niederschläge oder sonstigen sichtlichen Veränderungen bewirkt.

b) Auch der Umstand, dass bei den Nachbeobachtungen, wenn das Diffusionsgleichgewicht erreicht ist, der osmotische Wert des Zellsaftes fast gleich seinem ursprünglichen Wert (C) + der Konzentration des permeierenden Stoffes in der Aussenlösung ist, schränkt die Anzahl der denkbaren Veränderungen des permeierenden Stoffes in der Zelle ein, wie die folgenden Beispiele (deren Anzahl leicht zu vergrössern wäre) zeigen: Eine beträchtliche, dauernde Oxydation der organischen Verbindungen zu $CO_2 + H_2O$ kann nicht stattfinden, denn dann wäre das Eintreten des beobachteten osmotischen Gleichgewichts nicht möglich. Die untersuchten Ester der Zitronensäure können nicht in der Zelle hydrolysiert werden, denn dann wäre nach erreichtem Gleichgewicht der osmotische Wert des Zellsaftes gleich C + [Zitronensäureester] + [Zitronensäure], also grösser, als es tatsächlich der Fall ist, usw.

c) Besonders schwer zu begreifen und zu erklären wären die in dieser Untersuchung gemachten Beobachtungen, welche zeigen, dass das Permeieren dem FICK'schen Diffusionsgesetz gehorcht (S. 64—82), sowie die Ergebnisse aus den Exosmose-Endosmoseversuchen, wenn man annehmen würde, dass die untersuchten Verbindungen während des Versuches irgendwie im Plasma oder Zellsaft reagierten.

Auf Grund der obigen Ausführungen kommt es mir sehr wahrscheinlich vor, dass auch dieser Einwand zum mindesten keine *allgemeine Bedeutung* für die generellen Schlussfolgerungen aus den ausgeführten Versuchen — indem er sie systematisch verfälscht hätte — besitzen kann.

7) Gegen die Anwendung der Methode der Partialdrucke könnte man noch einwenden, dass auch Saccharose während des Versuchs ein wenig in die Zellen permeiert, wobei sie deren ursprünglichen osmotischen Wert steigert. Diesem Einwand kommt jedoch keine praktische Bedeutung zu. Das Permeieren von Saccharose in die *Rhoeo*-Zellen erfolgt nämlich so langsam, dass die daraus entstehende Veränderung des osmotischen Wertes z. B. innerhalb einer 8-stündigen Versuchszeit überhaupt kaum wahrnehmbar ist. Zieht man aus den Plasmolysekurven Schlüsse auf das Permeieren, so kann man folglich dabei diesen Umstand als unwesentlich gänzlich bei Seite lassen.

Aus den obigen Darlegungen erhellt, dass, wenn auch die Bedingungen 2, 4, 5, 6 und 7 bei meinen Versuchen wenigstens annähernd erfüllt gewesen sind, dies bei den Voraussetzungen 1 und 3 bestimmt nicht der Fall ist. Daraus folgt, dass der weiter oben (S. 49) aufgestellten Gleichung $x = \frac{100\ (C_1 - C)}{C_1}$ keine mathematische Genauigkeit zugesprochen werden darf, wenn man sie auch in gewissen Fällen zur ungefähren Schätzung der permeierten Stoffmengen benutzen kann. Eine derartige Schätzung wird offenbar da am genauesten ausfallen, wo es sich um eine Verbindung handelt, die erstens möglichst leicht durch die Zellmembran diffundiert und zweitens verhältnismässig langsam durch das Protoplasma permeiert. Denn der zuerst genannte Umstand ist ja dazu angetan, den Einfluss der unter 1) genannten Fehlerquelle zu verringern, während der zweite Umstand sowohl die unter 1) wie die unter 3) genannten Fehler vermindert. Andrerseits gestaltet sich jedoch die Bestimmung der permeierten Mengen *sehr* langsam permeierender Verbindungen (z. B. von Zuckerarten) recht unsicher, weil dabei während der hierbei nötigen langen Versuchszeit die unter 5) und 6) erwähnten Fehlerquellen eventuell gefährlich werden können. Ich glaube daher am genauesten die Permeiergeschwindigkeit für diejenigen Verbindungen bestimmt haben zu können, die hinsichtlich ihres Permeiervermögens zwischen Dicyandiamid und Glycerin stehen; nur für diese Verbindungen werde ich weiterhin *Zahlenwerte* der Permeiergeschwindigkeit (und auch des Permeiervermögens) mitteilen. Hinsichtlich aller anderen von mir untersuchten Verbindungen musste ich mich mit dem Versuch begnügen, sie in eine ihrer Permeiergeschwindigkeit gemässe Reihe einzuordnen. Auch dies ist nur möglich, wenn man alle dargelegten Fehlerquellen sorgfältig berücksichtigt.

Bisher ist in diesem Kapitel nur von der Bestimmung der in gegebenen Zeitabschnitten permeierten Stoffmengen, d. h. von der Feststellung der *Permeiergeschwindigkeit* die Rede gewesen. Ein weiteres Problem, das mit jener Frage nicht verwechselt werden darf, liegt in der Bestimmung des *Permeiervermögens* dieser Stoffe oder, anders ausgedrückt, in der Bestimmung

der *Permeabilität* der Protoplasten für diese Stoffe. Zur Lösung dieser weiteren Aufgabe genügt es nicht, die in bestimmten Zeitabschnitten permeierten Stoffmengen zu kennen, sondern man muss ausserdem noch die Grösse des zwischen Aussenlösung und Zellsaft bestehenden *Diffusionsgefälles* in bezug auf den permeierenden Stoff kennen. Auf S. 64—77 wird nämlich gezeigt werden, dass das Eindringen wenigstens der meisten von mir untersuchten Verbindungen in die *Rhoeo*-Zellen den Diffusionsgesetzen gehorcht. Daraus erhellt ohne weiteres, dass nur, wenn sowohl die Grösse des treibenden Diffusionsgefälles, wie die in der Zeiteinheit permeierten Stoffmengen bekannt sind, sich etwas Quantitatives über die Permeabilität für die betreffenden Verbindungen aussagen lässt.

Um die Grösse des Diffusionsgefälles angeben zu können, genügt es nicht, die Konzentrationen der betreffenden Verbindung in der Aussenlösung und im Zellsaft zu kennen. Vielmehr muss man hierfür auch die *Gleichgewichtslage* kennen, nach welcher der Permeationsprozess hinstrebt. Namentlich Stiles hat ja betont, dass die Konzentration der permeierenden Verbindung im Gleichgewichtszustand keineswegs immer im Zellsaft ebenso gross zu sein braucht wie in der umgebenden Lösung. Glücklicherweise bin ich nun auch in der Lage, auf Grund meiner Versuche die angestrebte Gleichgewichtslage für sehr viele der von mir untersuchten Stoffe angeben zu können.

Um diesen Umstand zu illustrieren, verweise ich auf Tabelle II, S. 87. In dieser sind in Kolumne 6, unter ∞', die nach etwa 20 bis 24 Stunden gemachten π-Wertbestimmungen für die verschiedenen Verbindungen eingetragen. Wenn die untersuchte Verbindung aus der Aussenlösung in die Zellen bis zu der Konzentration eindringt, in der sie in der Aussenlösung vorhanden ist, und wenn das Eindringen durch das Plasma hierauf vollständig aufhört, so ist es klar, dass dann der π-Wert dieser Verbindung 0.000 wird und auch bleibt, solange die Zellen des Objektes in den Lösungen sich unbeschädigt halten und ihr osmotischer Wert sich nicht weiter verändert. Wir sehen diesen Fall in der erwähnten Tabelle an mehreren Verbindungen recht gut verwirklicht; solche sind: Methylalkohol, Äthylalkohol, Äthylurethan, Methylurethan, Antipyrin, Butyramid, Äthylenglykol, Pinakonhydrat, Propionamid, Formamid, Monochlorhydrin, Diacetin, Glycerinmonoäthyläther, Acetamid, Succinimid und Diäthylharnstoff, d. h. *alle* die Verbindungen, mit denen man Nachbeobachtungen nach 20—24 St. anstellen konnte und an denen festgestellt wurde, dass die Gleichgewichtslage infolge des hinreichend raschen Permeierens der Verbindungen erreicht wird.

Bei Dimethylharnstoff und Verbindungen, die langsamer als dieser permeieren, wird die Gleichgewichtslage in diesen vergleichenden Versuchen innerhalb von 24 Stunden noch nicht vollständig erreicht. Dass aber auch wenigstens bei vielen von diesen ziemlich langsam permeierenden Verbindungen der

Permeationsprozess dem Konzentrationsverhältnis 1:1 zustrebt, das können wir aus Tafel IX, S. 66, ersehen. Denn auch die hier dargestellten Plasmolysekurven, die sich auf Versuche von verhältnismässig langer Dauer gründen, nähern sich ja bei Glycerin, Methylharnstoff, Schwefelharnstoff, Laktamid, Harnstoff und Dicyandiamid asymptotisch der Abszisse.

Es liegt auf der Hand, dass die an die Nachbeobachtungen sich anschliessenden Bestimmungen des π-Wertes nur unter Anwendung der Methode der Partialdrucke möglich sind (siehe S. 32). Die in Tabelle II, Kolumne ∞', häufig auftretenden kleinen, negativen osmotischen Koeffizienten zeigen hierbei, dass der Deplasmolyseprozess sich noch etwas an der grenzplasmolytischen Saccharosekonzentration vorbei fortgesetzt hat, was freilich auch zu erwarten war, denn in 20—24 Stunden scheint auch Saccharose etwas in die *Rhoeo*-Zellen einzudringen und so deren ursprünglichen osmotischen Wert zu erhöhen.

Zusammenfassend kann man somit sagen, dass in allen denjenigen Fällen, wo eine Entscheidung dieser Frage möglich war, *das Permeieren aus der Aussenlösung in den Zellsaft erwiesenermassen bis zu dem Zeitpunkt stattfindet, wo die Konzentration der untersuchten Verbindung im Zellsaft ziemlich genau ebenso gross ist wie in der Aussenlösung, also etwa bis zum Konzentrationsverhältnis 1:1.* Dieses Versuchsergebnis ist besonders wichtig. Nach Angaben früherer Forscher scheint diese Gleichgewichtslage, wenigstens in bezug auf Elektrolyte, keineswegs immer 1:1 zu sein (73, S. 188—198). Stiles hält mit Recht eine experimentelle Klärung dieses Umstandes bei Ausführung von wirklich quantiatativen Permeabilitätsuntersuchungen für unbedingt nötig (73, S. 189 u. 256).

Erst jetzt sind wir also berechtigt, den zwischen Aussenlösung und Zellsaft bestehenden Konzentrationsunterschied hinsichtlich der permeierenden Verbindung als ein direktes Mass des treibenden Diffusionsgefälles anzusehen. Erst jetzt können wir somit auch die auf gleichgrosse Konzentrationsunterschiede bezogenen, in der Zeiteinheit permeierten Stoffmengen als ein Mass für die Permeabilität der Zellen für diesen Stoff ansehen.

Aus den Ausführungen dieses Kapitels geht hervor, dass allen auf plasmolytischem Wege ausgeführten Permeabilitätsbestimmungen vor allem wegen der unter 6) (S. 56) genannten Fehlerquelle wenigstens theoretisch eine gewisse Unsicherheit anhaftet. Es ist deshalb wünschenswert gewesen, dass meine allgemeinen Ergebnisse wenigstens teilweise mittels einer anderen Untersuchungsmethode nachgeprüft wurden, die von dieser speziellen Fehlerquelle der plasmolytischen Methode frei ist. Dies hat bereits in umfassendem Masse Poijärvi (55) in seinen gleichzeitig mit meinen Versuchen ausgeführten Untersuchungen über das Permeieren von Basen in *Rhoeo*-Zellen getan.

Die bei einem Vergleich der Ergebnisse von Poijärvi und mir zu Tage tretende erfreuliche Übereinstimmung in sämtlichen prinzipiell wichtigen

Resultaten lässt wohl die Behauptung berechtigt erscheinen, dass der ablehnende Standpunkt, den z. B. Iljin (24 u. 25) und in gewissem Grade auch Stiles (73 u. 74) hinsichtlich der Möglichkeit von Permeabilitätsbestimmungen auf plasmolytischem Wege einnehmen, zu extrem ist. Ich gebe gern zu, dass bei vielen Objekten derartige Bestimmungen wegen der unüberblickbaren Fehlerquellen nicht möglich sind. Bei *Rhoeo* aber kann man doch entschieden — ich darf wohl sagen: erwiesenermassen — plasmolytische Permeabilitätsbestimmungen ausführen, denen zwar keine *absolute* Sicherheit zukommt (das ist übrigens bei äusserst wenigen Permeabilitätsbestimmungsmethoden der Fall), die aber trotzdem, wenn man nur mit der nötigen Umsicht verfährt, ganz brauchbare Ergebnisse liefern.

B. Gelten die ausgeführten Permeabilitätsbestimmungen auch für normale, unplasmolysierte Protoplasten?

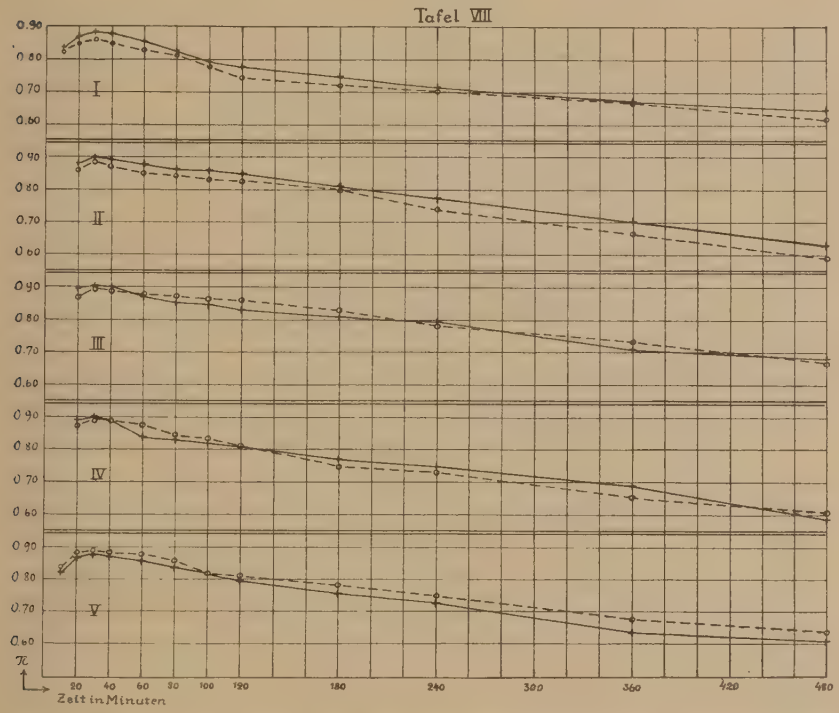
Wir kommen jetzt zu der Frage, inwieweit die in der vorliegenden Arbeit geschilderten Permeabilitätsbestimmungen an plasmolysierten Protoplasten auch für normale Epidermiszellen von *Rhoeo* zutreffen. Viele Permeabilitätsforscher sind ja der Ansicht, dass die Permeabilität der lebenden Protoplasten äusserst leicht veränderlich ist. Wenn das zutrifft, wäre wohl zu erwarten, dass ein so gewaltsamer Eingriff wie die Plasmolyse die Permeabilität stark verändern würde. Ausserdem könnte man sich leicht vorstellen, dass allein schon durch die bei Plasmolyseversuchen unvermeidliche Behandlung der Protoplasten mit beträchtlichen Konzentrationen von zum Teil mehr oder weniger giftigen Verbindungen eine Permeabilitätsveränderung zustande käme. Hierdurch würde der Wert meiner Permeabilitätsbestimmungen zwar nicht aufgehoben, aber immerhin beträchtlich eingeschränkt werden.

Wir haben also hier zwei verschiedene Umstände zu behandeln, nämlich: 1. die eventuelle Veränderung der Permeabilität der Protoplasten von *Rhoeo* durch die Einwirkung der untersuchten Verbindungen während der Versuchszeit, sowie 2. die Einwirkung der Plasmolyse auf die Permeabilität.

1. Behandeln wir zunächst die Möglichkeit, dass die untersuchten Verbindungen während der Versuchszeit vielleicht die Permeabilitätseigenschaften des Protoplasmas verändern, ohne jedoch eigentlich die Zellen zu schädigen. Um über diese Möglichkeit ins klare zu kommen, habe ich eine Reihe Spezialversuche ausgeführt.

In einigen Versuchen wurden die Zellen zunächst mit 0.3-norm. Äthylenglykollösung so lange behandelt (4 St.), bis man auf Grund früherer Untersuchungen wusste, dass die betreffende Verbindung vollständig in die Zellen permeiert und die Gleichgewichtslage erreicht war (siehe S. 87). Hierauf wurde die Permeiergeschwindigkeit des Harnstoffs in die mit Äthylenglykol behandelten Zellen und in normale Zellen vergleichend untersucht. Dabei

wurden zwei Harnstoffreihen benutzt: in der ersten diente eine 0.3-norm. Äthylenglykollösung als Lösungsmittel für den Harnstoff, in der anderen Leitungswasser. — Auf Tafel VIII sehen wir unter III das Ergebnis dieses Versuchs. Die punktierte Linie gibt darin das Permeieren des Harnstoffs in die Zellen in der 0.3-norm. Äthylenglykollösung an, die ausgezogene Linie dagegen das gleichzeitig festgestellte normale Permeieren in Schnitte, die in Leitungswasser lagen. Wir sehen diese Linien in dem Masse übereinstimmen,



dass man behaupten kann, der Harnstoff permeiere normal auch in die mit Äthylenglykol behandelten *Rhoeo*-Zellen.

In entsprechender Weise habe ich auch die Wirkung einiger anderer Verbindungen auf die Permeabilität der Protoplasten für Harnstoff untersucht. Es sind dies Äthylalkohol, Acetamid, Methylurethan und i-Valeramid. Die Behandlungszeiten der Zellen in den zu den Versuchen angewandten Konzentrationen dieser Verbindungen waren: in 1-norm. Äthylalkohollösung 2 St., in 0.15-norm. i-Valeramidlösung 4 St., in 0.30-norm. Methylurethanlösung 8 St. und in 0.30-norm. Acetamidlösung 15 St. Ausserdem wirkten die genannten Lösungen auf die Zellen noch während der 8 Stunden der eigentlichen Versuche. — Auf Tafel VIII sehen wir die die Wirkung dieser vier Verbindungen

veranschaulichenden Kurvenpaare: in I der Äthylalkohol-, in II der Acetamid-, in IV der Methylurethan- und in V der Valeramidversuch. — Wie aus dem geschilderten Äthylenglykolversuch, so erhalten wir auch aus den übrigen als Allgemeinergebnis, dass die genannten Konzentrationen der untersuchten Verbindungen die Permeabilität des *Rhoeo*-Protoplasmas jedenfalls gegenüber Harnstoff zum mindesten während 8 Stunden nicht verändern. Wenn auf S. 44—48 gezeigt wurde, dass die mittelst der Methode der Partialdrucke gewonnenen π-Werte mit den unter Benutzung des gewöhnlichen Reihenverfahrens erzielten übereinstimmen, so beweist dies, dass auch der Rohrzucker in den angewandten Konzentrationen die Permeabilität der *Rhoeo*-Zellen nicht merklich verändert. — Man gewinnt aus allen diesen Ergebnissen den Eindruck, dass die Permeabilität dieser Protoplasten nicht sehr leicht durch Lösungen von Nichtelektrolyten verändert wird.[1]) Es ist deshalb wahrscheinlich, dass in dieser Untersuchung wenigstens im allgemeinen die *normale* Permeabilität der Protoplasten beobachtet wurde, sofern sie nicht eben durch die Plasmolyse verändert worden ist.

2. Was schliesslich die Eventualität anbetrifft, dass die Permeiergeschwindigkeit verschiedener Verbindungen in die Pflanzenzellen sich als verschieden gross herausstellen würde, jenachdem ob die zur Untersuchung angewandte Zelle plasmolysiert worden ist oder nicht, muss man sagen, dass die diesbezüglichen, in der Permeabilitätsliteratur auftretenden Behauptungen und Ergebnisse einander auffallend widersprechen. Schon DE VRIES (85) gibt der Behauptung Ausdruck, dass das Permeieren von Glycerin in eine plasmolysierte Zelle langsamer vor sich gehe als in eine nicht plasmolysierte. Zu derselben Ansicht kommt RUHLAND (69) auf Grund seiner Untersuchungen über die Permeiergeschwindigkeit von Salzen in *Statice*. LEPESCHKIN dagegen behauptet (34), dass die Permeiergeschwindigkeit von Glycerin und Saccharose in *Spirogyra*-Zellen von der Plasmolyse selber unabhängig sei, und zu einem ähnlichen Ergebnis gelangt auch FITTING (17, S. 110—140) bei seiner eingehenden Untersuchung der Permeiergeschwindigkeit von Glycerin in *Rhoeo*-, *Strobilanthes*- und *Ledenbergia*-Zellen.

Um mir durch eigene Anschauung eine sichere Auffassung von der eventuellen Bedeutung der Plasmolyse für die Permeabilität der *Rhoeo*-Protoplasten zu bilden, habe ich in besonders zu diesem Zweck ausgeführten Versuchen die Aufnahme von Dicyandiamid, Harnstoff und Glycerin in plasmolysierte und unplasmolysierte Zellen vergleichend untersucht.

Beispielsweise in den Harnstoffversuchen bestimmte ich dabei zuerst den osmotischen Wert (C) zweier aus demselben Blatt hergestellten Schnitt-

[1]) Ob die Permeabilität der Protoplasten in *sehr verdünnten* Lösungen eine andere gewesen wäre, lässt sich allerdings auf Grund dieser Versuche nicht entscheiden.

reihen mittels Saccharose. Das Ergebnis war in der einen Schnittserie (A) C = 0.178 GM, in der anderen (B) C = 0.180 GM. Hiernach wurden die A-Schnitte in Harnstofflösungen gebracht, deren Konzentration 0.180 GM betrug, während die B-Schnitte in Lösungen kamen, die neben 0.180 GM Harnstoff noch 0.060 GM Saccharose enthielten. Die A-Schnitte bleiben somit unplasmolysiert, wogegen die B-Schnitte während des grössten Teils der Versuchszeit plasmolysiert sind. Nach 12 Stunden bestimmte ich die plasmolysierenden Grenzkonzentrationen (C_1) mittels Rohrzucker, wie aus folgendem Protokoll hervorgeht:

N:o 312. 27. 12. 28. Temp. 16—21° C.

	20′	40′	60′	90′	120′	
A	C_1 = 0.265	0.245	0.240	0.238	0.235	(C = 0.178)
B	C_1 = 0.260	0.250	0.245	0.241	0.240	(C = 0.180)

Dass die C_1-Werte dauernd abnehmen, rührt selbstverständlich von der allmählichen Exosmose des Harnstoffs her; bei den ersten Beobachtungen ist wohl ausserdem die Saccharose noch nicht in voller Konzentration bis zu den Protoplasten vorgedrungen. Vergleichen wir die Grenzkonzentrationen der A- und B-Reihe (unter gleichzeitiger Berücksichtigung ihrer ursprünglichen Grenzkonzentrationen, C), so finden wir sie so übereinstimmend gross, dass wir schliessen können, dass der Harnstoff praktisch gleich schnell in die plasmolysierten wie in die unplasmolysierten Protoplasten eingedrungen ist. Greifen wir z. B. die nach 1 Stunde beobachteten Grenzkonzentrationen heraus, so wäre in die Zellen der A-Reihe etwa 0.240 — 0.178 = 0.062 GM und in diejenige der B-Reihe etwa 0.245 — 0.180 = 0.065 GM eingedrungen (tatsächlich in beiden Fällen etwas mehr, da ja in den Zuckerlösungen ein Teil des Harnstoffs exosmiert ist).

In ganz entsprechender Weise untersuchte ich auch das Eindringen des Glycerins und des Dicyandiamids in plasmolysierte und unplasmolysierte Zellen. Das Ergebnis dieser Versuche geht aus folgenden Protokollen hervor:

N:o 313. A-Schnitte 4 St. in 0.2 GM Glycerin. B-Schnitte in 0.2 GM Glycerin + 0.1 GM Saccharose (etwa 3 St. plasmolysiert).

	20′	40′	60′	90′	120′	
A	C_1 = 0.335	0.316	0.295	0.270	0.260	(C = 0.205)
B	C_1 = 0.330	0.310	0.294	0.273	0.262	(C = 0.205)

N:o 314. A-Schnitte 12 St. in 0.18 GM Dicyandiamid. B-Schnitte in 0.18 GM Dicyandiamid + 0.08 GM Saccharose (während der ganzen Zeit plasmolysiert).

	20′	40′	60′	90′	120′	
A	C_1 = 0.240	0.225	0.224	0.224	0.223	(C = 0.183)
B	C_1 = 0.230	0.230	0.227	0.227	0.225	(C = 0.184)

Wenn wir hinwieder die nach 1 St. beobachteten C-Werte benutzen, finden wir, dass in die Zellen der A-Schnitte etwa 0.090 GM und in die der B-Schnitte etwa 0.089 GM Glycerin eingedrungen ist, während die entsprechenden Dicyandiamidwerte 0.041 und 0.043 GM sind.

Aus den hier referierten Versuchsergebnissen geht also hervor, *dass die Permeabilität der Rhoeo-Protoplasten für Harnstoff, Dicyandiamid und Glycerin in plasmolysiertem Zustand dieselbe wie in unplasmolysiertem Zustand ist.* Auch hat man keinen besonderen Grund anzunehmen, dass andere Verbindungen sich in dieser Hinsicht anders verhalten würden.

C. Die Ergebnisse der Permeabilitätsuntersuchungen.

1. *Gilt das Diffusionsgesetz von* Fick *für die Permeation?*

Es schien mir von grossem Interesse zu sein, die in der Überschrift gestellte Frage zu untersuchen, da bislang über die eventuelle Gültigkeit des Fick'schen Diffusionsgesetzes beim Eindringen von gelösten Stoffen in lebende Zellen nur wenige und zudem einander widersprechende Erfahrungen vorlagen. Um die aufgeworfene Frage beantworten zu können, habe ich spezielle plasmolytische Versuche ausgeführt, die ich im folgenden erläutere.

Beim Untersuchen der erwähnten Frage war es wichtig, möglichst vollständige Plasmolysekurven über die angewandten Verbindungen zu gewinnen. Auf Grund meiner Erfahrungen wählte ich zu diesem Zweck einige verhältnismässig langsam permeierende Verbindungen, nämlich Dicyandiamid, Harnstoff, Laktamid, Schwefelharnstoff, Methylharnstoff und Glycerin. Mit diesen Verbindungen kann man etwa 12—48-stündige Messungen der Permeiergeschwindigkeit in *Rhoeo*-Zellen ausführen. Da es gilt, die während aufeinanderfolgender Zeitabschnitte in die Zellen eingedrungenen Stoffmengen miteinander zu vergleichen, müssen natürlich während des einen bestimmten Versuchs Temperatur und Beleuchtung möglichst unverändert bleiben. Deshalb führte ich die hier zu schildernden Versuche im Sommer aus, wobei die Temperatur in meinem Zimmer, mittels des Thermographen gemessen, während der Versuchszeit um nicht mehr als 2 Grad geschwankt hat. Die Beleuchtung dagegen versuchte ich durch Bedecken der die Schnitte enthaltenden Glasgefässe mit einem Tuch zu regulieren.

Auf Tafel IX, S. 66, sehen wir die mit den obengenannten Stoffen in besonders langdauernden Versuchen erzielten Plasmolysekurven. Zum Vergleich sind in dieselbe graphische Darstellung fünf theoretisch konstruierte Kurven (I—V) eingezeichnet, die uns zeigen, welchen Verlauf die Plasmolysekurven hätten, falls 1) der Permeationsprozess dem Fick'schen Diffusionsgesetz folgte, und 2) falls alle sieben auf S. 49 aufgezählten Bedingungen erfüllt wären.

Bekanntlich lautet die von Fick aufgestellte Diffusionsgleichung:

$$dm = kq \frac{dc}{dx} dt,$$

worin dm die in der Zeit dt diffundierte Menge, q den Diffusionsquerschnitt, $\frac{dc}{dx}$ die Änderung der Konzentration auf dem Diffusionsweg, also das Diffusionsgefälle, und k eine für die Diffusionsgeschwindigkeit jeder Substanz charakteristische und die ihr sich bietenden Reibungswiderstände bemessende Konstante, die Diffusionskonstante bedeuten.

Um die Diffusionsgesetze auf meine Permeabilitätsexperimente anzuwenden, braucht man nicht die ursprüngliche Gleichung von Fick zu benutzen. Vielmehr kann man, da die Konzentration der Aussenlösung während des ganzen Versuchs konstant bleibt, eine einfachere Gleichung nehmen, die von Noyes und Whitney (44) sowie von Brunner (5) beim Studium der Auflösungsgeschwindigkeit fester Stoffe angewandt ist und die zuerst von Runnström (71) zur Darstellung des Permeationsvorganges empfohlen wurde. Unter Berücksichtigung des vorhin (S. 59) erwähnten Umstandes, dass nach erreichtem Diffusionsgleichgewicht zwischen Zellsaft und Aussenlösung annähernde Konzentrationsgleichheit in bezug auf den permeierenden Stoff herrscht, kann man der Gleichung die Form geben

$$\frac{dx}{dt} = P\,(C - x),$$

worin dx die in der Zeit dt eingedrungene Stoffmenge, C die Konzentration des permeierenden Stoffes in der Aussenlösung und x seine Konzentration im Zellsaft bedeutet. P ist eine konstante, die *ein exaktes Mass für das Permeiervermögen* der betreffenden Verbindung abgibt, ähnlich wie die Diffusionskonstante als Mass des Diffusionsvermögens dient. P mag daher die *Permeationskonstante* genannt werden. Die obige Gleichung nenne ich die Permeationsgleichung.

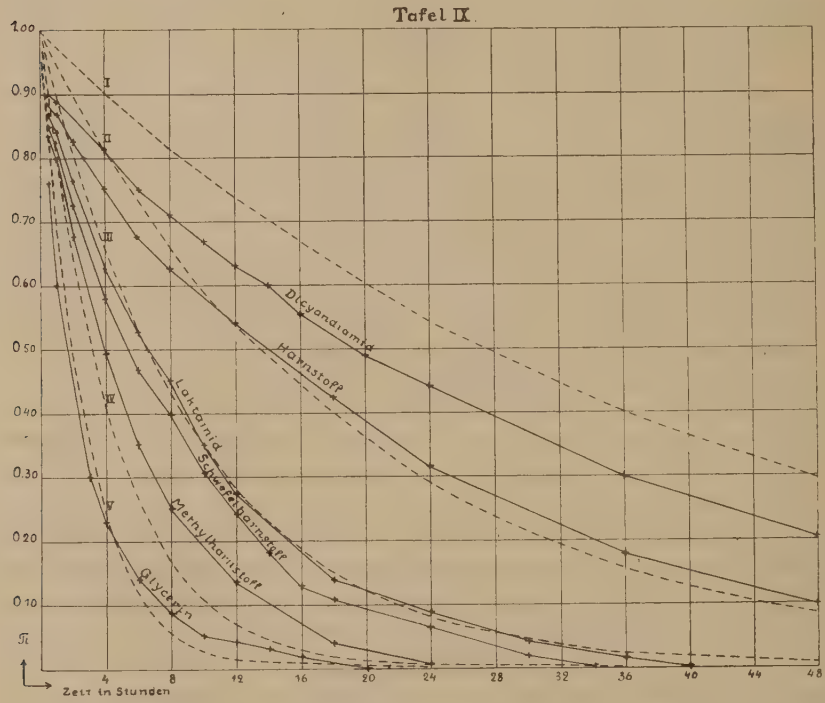
Wenn man die Permeationsgleichung integriert, geht sie in die folgende Form über:

$$P = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{C}{C - x}.$$

Die Kurven I—V der Tafel IX sind so gewonnen, dass ich C = 1 setzte, der Permeationskonstante die Werte 0.0253 (I), 0.0513 (II), 0.1054 (III), 0.2231 (IV) und 0.3567 (V) gab (die 1 St. entsprechenden x-Werte werden dann: 0.975, 0.950, 0.900, 0.800 und 0.700) und dann für verschiedene Zeitpunkte den je-

weiligen Wert von x berechnete. π wird dann unter den obigen Voraussetzungen gleich 1—x.

Hinsichtlich der empirischen Kurven der Tafel IX ist zu beachten, dass sie weder untereinander reduziert sind, noch auch in bezug auf die schon im Vorhergehenden dargelegten, reduzierten Kurven derselben Verbindungen. Ihre π-Werte weichen in vielen Punkten merklich von den π-Werten der schon früher erwähnten gleichen Verbindungen ab (siehe S. 39, Tafel I), was auch natürlich ist, wenn man bedenkt, dass gerade während der auf Tafel IX



dargestellten Versuche ungewöhnliche Verhältnisse geherrscht haben, nämlich ziemlich hohe Sommertemperatur (durchschnittlich etwa 23—24° C).

Vergleichen wir nun den Verlauf der empirischen Plasmolysekurven mit demjenigen der theoretisch konstruierten Kurven, so ist unser erster Eindruck der, dass beide Kurvengruppen *in grossen Zügen gleich verlaufen*. Das Permeieren der untersuchten sechs Verbindungen in die *Rhoeo*-Zellen folgt demnach wahrscheinlich dem FICK'schen Diffusionsgesetz. Eine nähere Prüfung zeigt jedoch, dass alle sechs empirischen Kurven in zwei Hinsichten mehr oder weniger deutlich von den theoretischen Kurven abweichen.

Die grössten Abweichungen beziehen sich auf die ersten Versuchsstunden. Die zu diesen Zeitpunkten gehörenden experimentell bestimmten π-Werte sind im allgemeinen deutlich zu niedrig, d. h. die untersuchte Verbindung *scheint* bei Beginn der Versuche verhältnismässig mehr in die Zellen permeiert zu sein, als dem Diffusionsgesetz nach zu erwarten wäre. Dieses Versuchsergebnis findet jedoch seine natürliche Erklärung, denn bei Anwendung des plasmolytischen Verfahrens muss man ja gerade im Anfang des Versuchs immer erheblich zu niedrige π-Werte erhalten, bis sich der zuerst bestehende grosse Konzentrationsunterschied zwischen der freien Aussenlösung und der unmittelbar um den Protoplasten herum befindlichen Lösung wenigstens grösstenteils ausgeglichen hat. (Vgl. S. 50—51.) Später werde ich in diesem Kapitel noch auf Versuche zurückkommen, durch die auch die während der zwei ersten Versuchsstunden aufgenommenen Mengen einiger Verbindungen ermittelt werden sollten (S. 72—76). Deshalb wollen wir hier für den Anfang den im Vergleich zu den Diffusionskurven abweichenden Verlauf der Anfangsteile der Versuchskurven unberücksichtigt lassen.

Die zweite Stelle, an der die empirischen Kurven ziemlich deutlich von den theoretischen Kurven abweichen, ist ihr Endteil, besonders unterhalb des π-Wertes 0.050. Sie schmiegen sich nämlich nicht asymptotisch wie die Diffusionskurven der 0-Linie an, sondern schneiden dieselbe. Auch diese Abweichung lässt sich aus den Verhältnissen erklären, unter denen die Versuche ausgeführt wurden. Zu beachten ist nämlich, dass bei der Methode der Partialdrucke (die gerade bei diesen Versuchen angewandt werden musste) auch die Saccharose der Aussenlösung in solcher Menge in die *Rhoeo*-Zellen zu permeieren scheint, dass dies bei langdauernden Versuchen nicht ganz vernachlässigt werden kann (siehe S. 87). Gerade von diesem langsamen Permeieren des Zuckers hängt es vermutlich ab, dass der Deplasmolyseprozess nicht *vollständig* aufhört, wenn der zu untersuchende Stoff bis zur Konzentrationsgleichheit mit der Aussenlösung in den Zellsaft eingedrungen ist. Vielmehr setzt er sich danach noch weiter fort, jetzt mit der der Saccharose eigenen, sehr geringen Geschwindigkeit (siehe S. 45). Unter diesen Umständen können wir in unseren vergleichenden Untersuchungen auch nicht die der 0-Linie allernächsten Teile der Kurven in Betracht ziehen.

Was nun schliesslich den Verlauf der mittleren Teile der betrachteten empirischen Plasmolysekurven betrifft, gründet sich gerade auf diese die obenerwähnte Behauptung, dass das Permeieren der untersuchten Verbindungen ungefähr nach dem Fick'schen Diffusionsgesetz erfolgt. Prüfen wir jede Kurve getrennt und behalten zugleich die zwei obengenannten Umstände im Auge, die den Verlauf des Anfangs- und Endteils dieser Kurven ziemlich erheblich störend beeinflussen. Die Kurve von Dicyandiamid sieht man nach etwas über 4 Stunden zwischen den theoretischen Kurven I und II; sie ver

läuft dann in ihrem grössten Teil ziemlich nahe der Mitte derselben. Beachtet man aber ihren Verlauf innerhalb 4—46 Stunden, so muss man doch zugeben, dass das Permeieren von D cyandiamid, z. B. im Vergleich zur Diffusionskurve II, sich zu verlangsamen scheint. — Die Harnstoffkurve verhält sich zur Diffusionskurve II annähernd ebenso wie die Dicyandiamidkurve. Demzufolge scheint auch das Permeieren des Harnstoffs in die *Rhoeo*-Zellen hinsichtlich der entsprechenden Diffusionskurve sich zu verlangsamen. — Die Laktamid- und die Schwefelharnstoffkurve verlaufen sehr schön in Übereinstimmung mit der Diffusionskurve III, beide vielleicht in Beziehung zu dieser sich ein wenig verlangsamend. — Ebenso sehen wir ferner die Methylharnstoffkurve ziemlich ausgesprochen der Diffusionskurve IV und die Glycerinkurve der Diffusionskurve V folgen; auch diese beiden verlangsamen sich etwas in bezug auf die entsprechenden Diffusionskurven. Wir können also sagen, dass *die empirischen Plasmolysekurven der untersuchten sechs Verbindungen im grossen und ganzen dem Verlauf der theoretischen Kurven folgen, sich aber in Hinsicht auf diese im allgemeinen ein wenig verlangsamen.* Im folgenden wollen wir noch im einzelnen die verschiedenen Einflüsse prüfen, die als Erklärung für die zwischen den theoretischen und empirischen Kurven auftretenden Diskrepanzen in Betracht kommen.

1) Störend hat auf die betreffenden Versuche zunächst der Umstand eingewirkt, dass die Oberflächengrösse der plasmolysierten Protoplasten während der Versuchszeit nicht unverändert geblieben ist, dass sich also die Grösse q in der Fick'schen Gleichung (S. 65) nicht ganz konstant erhalten hat. Es ist klar, dass innerhalb einer bestimmten Lösungsreihe die Zellen am kräftigsten in den stärksten Lösungen plasmolysiert werden, was zur Folge hat, dass sich die Oberfläche der Protoplasten in diesen Lösungen auf ein kleineres Mass als in den anderen zusammenzieht. Andererseits ist zu bemerken, dass die hier geschilderten Versuche nach der Methode der Partialdrucke ausgeführt worden sind, wobei die zu untersuchende Verbindung in nur 0.10-norm. Lösung angewandt wurde. Folglich ist die Plasmolyse auch in den stärksten Lösungen verhältnismässig schwach gewesen (was übrigens für die ganze grenzplasmolytische Untersuchungsmethode kennzeichnend ist), und demnach sind die Plasmaoberflächen der in verschiedenen Lösungen befindlichen Zellen trotz allem während der Versuche ziemlich gleich gross geblieben. Dies habe ich durch ganz spezielle Prüfung dieses Umstandes festgestellt. Ausserdem ist zu berücksichtigen, dass die Zellen in den konzentriertesten Lösungen infolge der anfangs verhältnismässig schnell stattfindenden Deplasmolyse nur kurze Zeit maximal plasmolysiert sind, vielmehr sind auch sie während des grössten Teils des Versuchs nur schwach plasmolysiert. Ihr *mittlerer* Plasmolysegrad, auf den es gerade ankommt, ist somit nicht sehr viel grösser als der der in den verdünnteren Lösungen liegenden Zellen.

Immerhin ist es kaum zweifelhaft, dass in den hier in Rede stehenden Versuchen die mittlere Oberflächengrösse der Protoplasten in den stärkeren Lösungen etwas kleiner als in den verdünnteren Lösungen gewesen ist. Da nun der Anfangsteil der Plasmolysekurve sich auf die in den verdünnteren Lösungen liegenden Schnitte bezieht, der Schlussteil der Kurve dagegen auf Schnitte in konzentrierteren Lösungen, so muss dieser Umstand eine *scheinbare Verlangsamung* des Permeationsprozesses gegen Ende des Versuches bewirken.

2) Bereits im Vorhergehenden, auf S. 67, wurde auf den Umstand aufmerksam gemacht, auf Grund dessen die π-Werte der Anfangsteile der dargestellten empirischen Kurven sichtlich zu klein im Vergleich zu den theoretischen Werten sind; ich meine den Umstand, dass infolge der Langsamkeit der Diffusion durch die Zellmembranen hindurch die Konzentration der Lösung dicht an der Aussenfläche der Protoplasten besonders während der ersten Versuchsstunden bedeutend niedriger als in der freien Aussenlösung gewesen ist. Aus diesem Grunde wurden bei der betreffenden Untersuchung die den ersten Versuchsstunden entsprechenden π-Werte der experimentellen Kurven unberücksichtigt gelassen. Doch ist es denkbar, dass, solange das Permeieren der zu untersuchenden Verbindung in die Zellen dauert, kein vollkommener Ausgleich zwischen der Konzentration der eigentlichen Aussenlösung und der an der Plasmahaut herrschenden Konzentration stattfindet. Auf Grund meiner Untersuchungen habe ich jedoch festgestellt, dass dieser Konzentrationsausgleich in bezug auf sehr langsam permeierende Verbindungen (wie z. B. Malonamid und Saccharose) fast vollständig etwa während der zwei ersten Versuchsstunden erfolgt (siehe S. 45; Tafel VI). Unter diesen Umständen ist es sehr wahrscheinlich, dass auch hinsichtlich der in diesem Abschnitt behandelten, ziemlich langsam permeierenden, nicht sehr grossmolekularen Verbindungen ein solcher Konzentrationsausgleich grösstenteils schon innerhalb der ersten zwei Versuchsstunden stattfindet, zumal da die Diffusionsgeschwindigkeiten aller dieser Verbindungen beträchtlich grösser sind als z. B. von Saccharose. — Wenn wir annehmen, dass auch nach Verlauf der zweiten Versuchsstunde eine etwas kleinere Konzentration unmittelbar um den Protoplasten herum geherrscht hat als in der freien Aussenlösung, so folgt daraus, dass auch die zu diesen Zeitpunkten beobachteten Plasmolysegrade ein wenig schwächer gewesen sind als die theoretisch erwarteten, d. h. die untersuchte Verbindung scheint rascher permeiert zu sein, als es in Wirklichkeit der Fall war (die entsprechenden π-Werte also etwas zu klein). Dieser theoretische Fehler wird jedoch noch durch den Umstand reduziert, dass beim Berechnen der π-Werte allein die Konzentration der freien Aussenlösung in Betracht gezogen war, und natürlich nicht die unbekannte, ein wenig kleinere Konzentration an der Plasmahaut, welcher Umstand wiederum auf die berechneten π-Werte ver-

grössernd eingewirkt hat. — Wenn wir bei unserer Untersuchung die Anfangsteile der ezperimentellen Kurven von Tafel IX oder die Werte, die etwa den 3—4 ersten Versuchsstunden entsprechen, bei Seite lassen, so können wir wohl somit die Wirkung des hier geschilderten Fehlers auf die Form der Kurven als recht geringfügig ansehen.

3) Auf S. 67 wurde im Vorhergehenden bereits das mit der Methode der Partialdrucke verknüpfte Permeieren von Saccharose in die Zellen während des Versuchs erwähnt, sowie der daraus entspringende Umstand, dass die experimentellen Kurven die 0-Linie schneiden. Es ist klar, dass dieser Umstand die Form der Kurven auch schon in ihren höheren Teilen etwas beeinflusst. Aus der Tafel VI, S. 45, ersehen wir jedoch, dass das Permeieren von Saccharose in die *Rhoeo*-Zellen ausserordentlich langsam stattfindet. So scheint nach der Tafel Saccharose z. B. innerhalb von 12 Stunden nur zu etwa 2.5 % zu permeieren. Auch der Einfluss dieses störenden Faktors auf die Gesamtform der Kurven ist gering: zieht man nur ihn in Betracht, so sind jedoch alle π-Werte vielleicht ein wenig zu niedrig, und dies verhältnismässig desto mehr, je mehr man sich der 0-Linie nähert. Dieser Umstand wirkt also auf die Form der Kurven in entgegengesetzter Richtung ein als der unter Punkt 1) erwähnte, aber in äusserst geringem Grad. Den der 0-Linie nächsten Teil der Kurven gestaltet er jedoch deutlich abweichend von den theoretischen Diffusionskurven.

4) In diesem Zusammenhang möge auch noch der Umstand erwähnt werden, dass die in die obige Tafel IX eingetragenen π-Werte sich auf Versuche gründen, bei denen volumnormale Lösungen angewandt wurden. Infolgedessen sind die π-Werte besonders der Anfangsteile der Kurven etwas zu niedrig (vgl. S. 89). Unter Berücksichtigung u. a. des Einflusses der in Frage stehenden Fehlerquelle auf den Verlauf der Plasmolysekurven habe ich Untersuchungen ausgeführt, die in diesem Kapitel sogleich beschrieben werden (S. 72).

5) Da sich während der Versuche das Licht und besonders die Temperatur nicht ganz unverändert erhalten liess, sind wohl kleine, unregelmässige Schwankungen der Permeabilität der Protoplasten zu erwarten. Da jedoch die Temperaturschwankungen während eines einzelnen Versuchs nicht mehr als etwa 2° C betrugen, ist es höchst wahrscheinlich, dass diese Fehlerquelle keine sehr grosse Rolle gespielt hat.

In Erwägung der besprochenen Fehlerquellen ziehe ich nun aus den geschilderten Versuchen den allgemeinen Schluss, dass — wenn wir vorläufig von den allerersten Versuchsstunden absehen — *das Permeieren der untersuchten Verbindungen in die Rhoeo-Zellen ziemlich deutlich dem* Fick*'schen Diffusionsgesetz zu folgen scheint.* Was die beobachtete, geringe Verlangsamung der Permeation im Vergleich zu den theoretischen Diffusionskurven

betrifft, glaube ich, dass dieselbe nur scheinbar ist und durch die unter 1) und 2) genannten Umstände (S. 68—69) befriedigend erklärt wird. *Es liegt demnach kein Grund vor, anzunehmen, dass die Permeabilität der Protoplasten sich während des Versuchs diesen Stoffen gegenüber vermindert.* In dieser Hinsicht scheinen somit die Protoplasten von *Rhoeo* sich den untersuchten *Nichtelektrolyten* gegenüber wesentlich anders zu verhalten, als sie sich nach FITTING zu *Salzlösungen* verhalten.

Auf Grund der obendargelegten, das FICK'sche Diffusionsgesetz betreffenden Versuche kann man die *Permeationskonstanten* (P) der betreffenden Verbindungen in diesen Versuchen mittels der auf S. 65 angeführten Permeationsgleichung berechnen, wenn man die in die Zellen eingedrungenen Stoffmengen auf Grund der (allerdings bloss annähernd gültigen) Gleichung $x = \frac{100\ (C_1 - C)}{C_1}$ berechnet. (Vgl. S. 49 und 57.) Dabei empfiehlt es sich natürlich, der Berechnung diejenigen Punkte der empirischen Plasmolysekurve zugrunde zu legen, in denen die Kurven den theoretischen Diffusionskurven am genauesten folgen. Da bei Benutzung der Sekunde oder Minute als Zeiteinheit die P-Werte unbequem klein sein würden, wird hier die Stunde als Zeiteinheit gewählt. Wenn man auf diese Weise vorgeht, erhält man für die Permeationskonstanten z. B. folgende Werte:

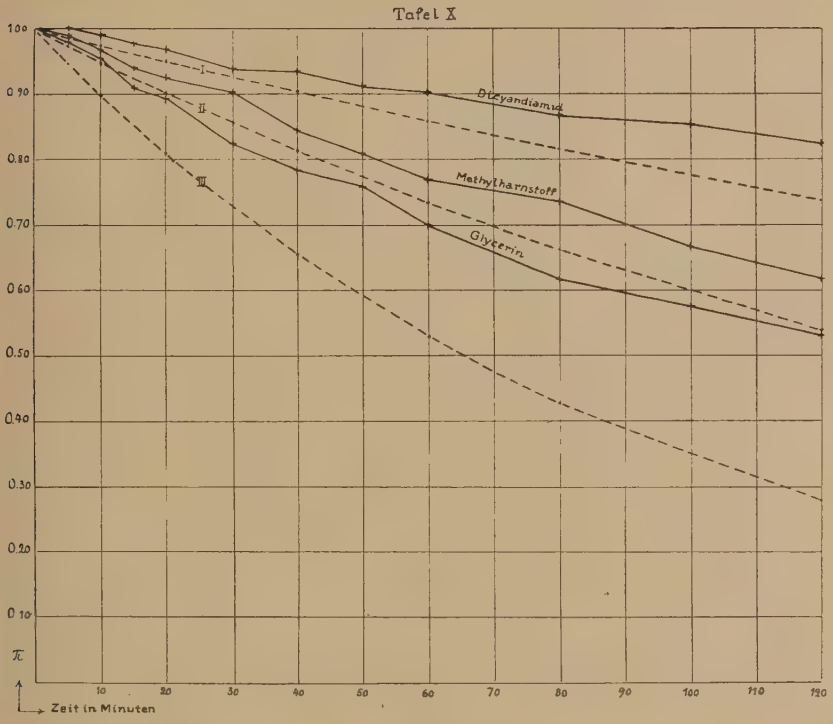
Dicyandiamid	0.038 (12 St.);	0.035 (24 St.);	0.034 (36 St.)
Harnstoff	0.051 (12 —»—);	0.048 (24 —»—);	0.048 (36 —»—)
Laktamid	0.107 (6 —»—);	0.108 (12 —»—);	0.103 (24 —»—)
Schwefelharnstoff	0.128 (6 —»—);	0.119 (12 —»—);	0.114 (24 —»—)
Methylharnstoff	0.178 (4 —»—);	0.173 (8 —»—);	0.167 (12 —»—)
Glycerin	0.400 (2 —»—);	0.367 (4 —»—);	0.308 (8 —»—)

Die ausgeführte Berechnung zeigt dasselbe, was man bereits bei der Prüfung des Verlaufs der Plasmolysekurven beobachtete: Der aus den Plasmolysekurven berechnete Verlauf des Permeationsprozesses stimmt bei allen hier betrachteten Stoffen im grossen und ganzen mit dem auf Grund des FICK'schen Diffusionsgesetzes berechneten überein, was aus der annähernden Konstanz der auf verschiedene Zeitpunkte bezüglichen P-Werte ersichtlich ist. Doch zeigt sich bei allen sechs Stoffen die oben besprochene scheinbare Verlangsamung des Permeationsprozesses gegen Ende des Versuches. Wenn man die oben ausgerechneten Zahlen als absolute Masse für die Permeierfähigkeiten der in Frage stehenden Verbindungen aufstellt, muss doch zugleich darauf aufmerksam gemacht werden, dass sie nicht ganz genau miteinander vergleichbar sind, da sie sich auf verschiedene Blätter beziehen und an verschiedenen Tagen bestimmt worden sind.

Im Vorhergehenden ist bereits darauf hingewiesen worden, dass ich mit Hilfe von Spezialversuchen zu ermitteln versucht habe, wieviel von einigen Verbindungen im Verlauf kleinerer Zeitabschnitte während der zwei ersten Versuchsstunden in die Zellen eingedrungen ist. Zu dieser Sonderuntersuchung kommen wir jetzt.

Zunächst führte ich, Malonamid und Glycerin auf die übliche Weise miteinander vergleichend, acht 2-stündige Versuche nach dem gewöhnlichen Reihenverfahren aus. Hierauf zeichnete ich auf Grund der angestellten Versuche die mittleren Plasmolysekurven für jede der Verbindungen. Auf diese Weise gelangen wir zu Kurven, die ihrer Form nach an den Anfangsteil der auf Tafel II, S. 40 dargestellten Malonamid- und Glycerinkurve erinnern. Vorhin wurde bereits mehrfach hervorgehoben, dass die ersten π-Werte der Kurven deshalb so niedrig sind, weil die plasmolysierenden Stoffe eine gewisse Zeit brauchen, um in voller Konzentration durch die Zellmembranen hindurch bis an die Aussengrenze der Protoplasten heran zu diffundieren. Die von dieser Fehlerquelle freien, annähernd richtigen π-Werte der Glycerinkurve habe ich nun, wie folgt, zu berechnen versucht. Sagen wir, wir bekommen nach einer bestimmten relativ kurzen Zeit als plasmolysierende Grenzkonzentration von Malonamid 0.250 GM, während der ursprüngliche osmotische Wert der Zellen in gewöhnlicher Weise mit Saccharose gemessen 0.200 GM ist. Angenommen, dass das Malonamid bis dahin gar nicht in die Protoplasten eingedrungen ist, und dass die ihrer Volumnormalität nach gleich konzentrierten Lösungen von Saccharose und Malonamid denselben osmotischen Druck erzeugen, so können wir schliessen, dass zu dem betreffenden Zeitpunkt die tatsächliche Malonamidkonzentration an der Aussengrenze der Protoplasten etwa 0.200 beträgt. Demnach sind bis zu diesem Zeitpunkt nur etwa $\frac{0.200 \cdot 100}{0.250} = 80\,\%$ des Malonamids aus der Aussenlösung durch das Gewebe bis an die Plasmahäute der Epidermiszellen eingedrungen. Nun nehme ich an, dass auch das Glycerin bis zu dem entsprechenden Zeitpunkt im selben Masse wie das Malonamid bis zu den Plasmahäuten vorgedrungen ist. Diese Annahme stützt sich auf den Umstand, dass die Molrefraktionen (MR_D) dieser beiden Stoffe annähernd gleich gross sind (Malonamid 22.9, Glycerin 20.6), was eine ungefähr gleich grosse Diffusibilität dieser Stoffe wahrscheinlich macht. Erhält man als plasmolytische Grenzkonzentration von Glycerin zu dem obenangenommenen Zeitpunkt z. B. 0.300, und sind, dem Vorhergehenden entsprechend, auch $80\,\%$ des Glycerins bis zu diesem Zeitpunkt aus der Aussenlösung bis an die Plasmahaut vorgedrungen, so ist die Glycerinkonzentration an der Plasmahaut dabei 0.240 GM, woraus man wiederum als dem besagten Zeitpunkt entsprechenden korrigierten π-Wert des Glycerins

$\frac{0.200}{0.240} = 0.833$ erhält (vorausgesetzt, dass der osmotische Wert der angewandten Zellen derselbe gewesen ist wie bei dem entsprechenden Malonamidversuch). Die so gewonnenen osmotischen Koeffizienten sind dann noch in der Weise korrigiert, dass die ursprünglich volumnormal hergestellten Lösungen auf Gewichtsnormalität umgerechnet wurden (siehe S. 89). Malonamid und Glycerin sind alles in allem in acht verschiedenen Reihen-



versuchen miteinander verglichen worden, und die auf Tafel X befindliche Glycerinkurve ist folglich der Mittelwert der auf obige Weise gewonnenen acht Glycerinkurven. Die auf derselben Tafel sichtbaren Methylharnstoff- und Dicyandiamidkurven sind auf ganz dieselbe Weise durch Vergleich dieser Verbindungen mit Malonamid erhalten. (Die Molrefraktion des Methylharnstoffs beträgt 18.5, diejenige des Dicyandiamids 20.7.) Es sei darauf aufmerksam gemacht, dass diese Kurven weder in bezug aufeinander noch auch auf irgendwelche anderen obengeschilderten Kurven reduziert sind. Sie sind folglich jede nur einzeln mit den auf derselben Tafel eingetragenen theoretischen Diffusionskurven I—III vergleichbar.

Diese theoretischen Kurven entsprechen den P-Werten 0.1518, 0.3078 und 0.6324 (die 10 Min. entsprechenden π-Werte: 0.975, 0.950 und 0.900).

Prüfen wir nun den Verlauf der auf Tafel X befindlichen Dicyandiamid-, Methylharnstoff- und Glycerinkurve und vergleichen sie mit den theoretisch konstruierten Diffusionskurven derselben Tafel, so sehen wir, dass die grossen Unterschiede, die zwischen dem Anfangsteil der gewöhnlichen, empirischen Plasmolysekurven und dem entsprechenden Teil der theoretischen Diffusionskurven herrschen, infolge der hier eingeführten Korrektion tatsächlich fast ganz verschwunden sind. — Was den Verlauf dieser drei Kurven noch im besonderen angeht, wären in Hinsicht auf sie zwei Einwände zu erheben, wie sie z. B. die früher auf S. 66, Tafel IX, befindlichen Kurven nicht hervorrufen: 1) Der Verlauf der Permeierkurven von Tafel X ist etwas unregelmässig, obgleich es sich hier um Mittelwerte aus mehreren Versuchen handelt; 2) scheinen besonders die 5′- und 10′-π-Werte aller drei Kurven von Tafel X im Vergleich zu den anderen π-Werten ein wenig zu gross zu sein. Diese Abweichungen von den theoretischen Diffusionskurven werden grösstenteils verständlich, wenn wir uns nun die Fehlerquellen vergegenwärtigen, die bei diesen Versuchen in Frage kommen.

1) Als erstes möge ausgesprochen werden, dass gegen die in Frage stehenden Kurven die früher auf S. 68—70 erwähnten Einwände 1), 3), 4) und 5) kaum erhoben werden können. Erstens wirkt die ungleiche Verkleinerung der Oberfläche der Protoplasten in diesen Versuchen nicht merklich störend ein, da ja die Konzentrationsunterschiede zwischen den Lösungen ziemlich klein waren. Zweitens kommt ein Permeieren von Saccharose hier gar nicht in Frage, da die Versuche nach dem gewöhnlichen Reihenverfahren — also ohne Zucker — gemacht wurden. Drittens gründen sich die Kurven auf die unter Zugrundelegung der Gewichtsnormalität der Lösungen berechneten plasmolytischen Koeffizienten, und viertens sind die Temperatur- und Beleuchtungsschwankungen wegen der kurzen Dauer der Versuche wohl ganz gering gewesen. — Die im folgenden erörterten Fehlerquellen sind dagegen sicherlich ernsterer Natur.

2) Die genaue Bestimmung der den ersten Beobachtungszeiten entsprechenden plasmolysierenden Grenzkonzenration ist sehr schwer, da hierbei Schnitte oft auch in ganz verschieden starken Lösungen denselben oder fast denselben Plasmolysegrad zeigen können. Hieraus folgt, dass von den bestimmten π-Werten die den ersten Beobachtungen entsprechenden am unsichersten sind. Vorwiegend hierauf beruht wohl der relativ ungleichmässige Verlauf der dargestellten Kurven.

3) Über die π-Werte der dargestellten Kurven wäre ferner zu bemerken, dass sie sich auf eine Berechnung stützen, der zufolge als Aussenlösungs-

konzentration die beim Endpunkt einer bestimmten Zeit an der Plasmahaut berechnete Konzentration angesehen wird. Wenn man nach Verlauf von 5′ als Aussenlösungskonzentration z. B. 0.250 GM erhält, ist zu beachten, dass diese Konzentration *während* der 5 ersten Versuchsminuten überhaupt gar nicht an der äusseren Plasmahaut geherrscht hat. Die betreffende Konzentration ist im Gegenteil ganz im Anfang des Versuchs 0.000 gewesen und von da *nach Verlauf* von 5′ auf etwa 0.250 gestiegen. Demzufolge ist die Aussenlösungskonzentration um den Protoplasten herum während der 5′ in Wirklichkeit auch ihrem Durchschnittswert nach beträchtlich kleiner als 0.250 gewesen, und folglich gibt der nach Verlauf von 5′ bestimmte π-Wert das Verhältnis des ursprünglichen osmotischen Wertes der Zellen zu der Aussenlösungskonzentration, die innerhalb der ersten fünf Versuchsminuten an der Plasmahaut tatsächlich geherrscht hat, unrichtig an.

Auch wenn es möglich wäre, die Gesamtstoffmenge, die z. B. binnen 5 Minuten in die Zellen permeiert ist, ganz genau zu bestimmen, so ist diese also doch, wegen der obwaltenden Versuchsverhältnisse, kleiner als unter den für das Zeichnen der theoretischen Diffusionskurven vorausgesetzten Verhältnissen. — Tatsächlich finden wir ja auch, dass besonders die nach 5′ und 10′ bestimmten π-Werte ein wenig zu gross erscheinen. Diese Fehlerquelle beeinflusst auch die späteren Beobachtungen, wenn auch in desto geringerem Masse, je vollständiger der Konzentrationsausgleich zwischen der Konzentration der eigentlichen Aussenlösung und der an der Plasmahaut herrschenden Konzentration stattgefunden hat.

4) Oben wurden die Diffusionsgeschwindigkeiten der miteinander verglichenen Verbindungen als gleich gross angenommen. Natürlich stimmt diese Annahme nur annäherungsweise. Aber wenn auch die Diffusion der untersuchten Verbindungen mit gleicher Geschwindigkeit stattfände, wirkt ihr verschieden rasches Permeieren in die Protoplasten doch auch störend auf die ausgeführten Berechnungen. Die rascher permeierenden Verbindungen befinden sich wahrscheinlich nach Ablauf einer bestimmten Zeit in kleinerer Konzentration an der Aussengrenze der Protoplasten als die langsamer permeierenden. Es gilt somit auch hier das schon auf S. 69 unter Punkt 2) Gesagte. Ungleiche Konzentrationen an den Plasmahäuten können auch durch die verschieden grosse Dicke der angewandten Schnitte bewirkt worden sein. In Anbetracht dessen habe ich natürlich versucht, die zu den vergleichenden Reihenversuchen benutzten Schnitte nach Möglichkeit gleich dick zu machen. Daduch dass man die Berechnungen auf Mittelwertbestimmungen basiert, wird selbstverständlich auch die Bedeutung dieser Fehlerquelle stark verringert.

Die geschilderten Fehlerquellen sind zweifellos ziemlich schwerwiegender Natur. Besonders aus den allerersten Teilen der Kurven können wir, dem

Vorhergehenden zufolge, keinerlei sichere Schlussfolgerungen ziehen. Das erzielte Ergebnis betreffs der Permeiergeschwindigkeit der untersuchten drei Verbindungen lässt trotzdem die Behauptung äusserst wahrscheinlich erscheinen, dass das Permeieren der untersuchten Verbindungen *bereits von Anfang an* nach dem FICK'schen Diffusionsgesetz erfolgt. Ich finde also nichts, was für die von FITTING (17, S. 140) erwogenen Möglichkeiten spräche, wonach entweder die bei Versuchsbeginn sehr hohe Permeabilität für Glycerin sofort nach der Berührung der Plasmahäute mit den Glycerinlösungen sehr stark herabgesetzt oder aber durch die Einwirkung der Glycerinlösungen infolge der Bildung osmotisch wirksamer Substanzen der osmotische Druck in den Zellen vorübergehend stark erhöht würde.

Auf Grund aller in diesem Kapitel vorgelegten Ergebnisse sehe ich mich zu der generellen Behauptung berechtigt, *dass das Permeieren der in dieser Hinsicht untersuchten sechs Verbindungen wenigstens, soweit feststellbar, im grossen und ganzen nach dem* FICK'*schen Diffusionsgesetz erfolgt.* Dies deutet auch darauf hin, dass das Permeieren der betreffenden Verbindungen in *Rhoeo*-Zellen in erster Linie ein *physikalischer* und kein *physiologischer* Prozess etwa von der Art der »adenoiden Tätigkeit» im Sinne OVERTON's oder der »physiologischen Permeabilität» im Sinne HÖBER's ist.

Wie steht es nun in dieser Hinsicht mit den übrigen in dieser Arbeit untersuchten Stoffen? Was zunächst die *schneller als das Glycerin permeierenden* Verbindungen betrifft, wird man wohl kaum fehlgehen, wenn man die mit den sechs oben untersuchten Stoffen erzielten Resultate auch auf sie ausdehnt. Denn je schneller eine Verbindung durch das Plasma permeiert, um so geringer sind wohl die Möglichkeiten für ein aktives Eingreifen in diesen Prozess seitens der Protoplasten. Auf plasmolytischem Wege lässt sich allerdings ein direkter Beweis für das Zutreffen des Diffusionsgesetzes beim Permeieren der schnell eindringenden Verbindungen kaum erbringen, vor allem weil die auf S. 50—52 unter 1) und 3) erwähnten Fehlerquellen eine einigermassen sichere Schätzung der in bestimmten Zeitabschnitten permeierten Stoffmengen unmöglich machen. Doch müssen die gleich zu besprechenden Versuche über die Exosmosegeschwindigkeit verglichen mit der Endosmosegeschwindigkeit wenigstens als ein wichtiges indirektes Indizium für die einfach physikalische Natur der Permeation dieser Stoffe betrachtet werden.

Anders steht es mit den untersuchten *langsamer als Dicyandiamid permeierenden Verbindungen* (hauptsächlich mehrwertige Alkohole und Zuckerarten). Auf ihre Permeation kann ich die These von dem Zutreffen des FICK'schen Diffusionsgesetzes nicht ausdehnen, da ich über keine weder direkte noch indirekte diesbezügliche Erfahrungen verfüge.

Immerhin besteht wohl kaum ein Zweifel, dass wenigstens die aller-

meisten in der vorliegenden Arbeit behandelten Erscheinungen auf die passive, physikalische Protoplasmapermeabilität Bezug haben.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass z. B. Marian Irwin (26) bei ihren Untersuchungen über das Permeieren von Brilliantcresylblau in *Nitella*-Zellen, Szücs (75) bei seinen Untersuchungen von Methylviolett und Tröndle (83) bei seinen Untersuchungen über das Eindringen von Piperidin, Chinin und Coffein in *Spirogyra*-Zellen das Permeieren nach dem Fick'schen Gesetz an Pflanzenzellen beobachtet haben wollen. (Die Versuche von Szücs und Tröndle scheinen allerdings nicht ganz einwandfrei.) Andrerseits sind sowohl diese wie auch viele andere Forscher bei Anwendung anderer Objekte und Verbindungen auch zu ganz entgegengesetzten Ergebnissen gelangt.

2. *Vergleichende Untersuchungen über Endosmose- und Exosmosegeschwindigkeit.*

Mit den an *Rhoeo*-Zellen angestellten Endosmoseversuchen steht in engster Verbindung die Untersuchung über die Exosmose der angewandten Verbindungen aus denselben Zellen. In Anbetracht der äusserst dürftigen Angaben, die bisher über diesen Gegenstand in der Literatur vorliegen, kann eine derartige Untersuchung an sich ein erhebliches Interesse beanspruchen. Sie war ferner von Wichtigkeit, um die im vorigen Abschnitt behandelte Frage von der »physikalischen» oder »physiologischen» Natur der untersuchten Permeationsprozesse von einer neuen Seite zu beleuchten.

Zuerst wurde festgestellt, dass die aus der Aussenlösung in die *Rhoeo*-Zellen permeierte Verbindung auch tatsächlich dann aus den Zellen exosmiert, wenn die Zellen in eine von der betreffenden Verbindung freie Lösung gebracht werden. Diese Feststellung geschah in folgender Weise. Zuerst wurde der osmotische Wert der Zellen mit einer Saccharosereihe bestimmt (0.172 GM), worauf die Schnitte in eine gleich konzentrierte Saccharosereihe mit einem Zusatz von 0.300 GM *Äthylenglykol* übergeführt wurden. Hierbei werden die Zellen anfangs stärker plasmolysiert und dann deplasmolysiert, bis, wenn nach 4 Stunden die Gleichgewichtslage erreicht ist, die plasmolysierende Grenzkonzentration 0.172 GM Saccharose + 0.300 GM Äthylenglykol ist. Nun wurden die Zellen wieder in die ursprüngliche, reine Saccharosereihe zurückgebracht, wo die Plasmolyse anfangs abnimmt und dann zunimmt, bis der Prozess wiederum nach Verlauf von 4 Stunden mit der Gleichgewichtslage 0.172 GM abschliesst. — Ein ganz gleicher Versuch wurde auch mit *Acetamid* ausgeführt, aber dabei war zur Entstehung der Gleichgewichtslage eine Zeit von 8 Stunden nötig. Das Ergebnis stimmt sonst mit dem Äthylenglykolversuch überein. — Es ist klar, dass bei diesen bei-

den Versuchen die untersuchte Verbindung zuerst in die Zellen bis zur gleichen Konzentration mit der Aussenlösung permeiert und dann, nach Überführung der Schnitte in die reine Saccharosereihe, vollständig aus den Zellen exosmiert ist. Alle anderen Deutungen der konstatierten Erscheinungen sind höchst unwahrscheinlich.

Um die Exosmosegeschwindigkeit genauer mit der Endosmosegeschwindigkeit derselben Verbindung vergleichen zu können, habe ich Versuche ausgeführt, deren Prinzip an der Hand des folgenden Beispieles erläutert werden mag. Ich wählte zwei Verbindungen, von denen ich auf Grund vorhergehender Versuche wusste, dass sie mit innerhalb der Fehlergrenzen gleicher Geschwindigkeit in *Rhoeo*-Protoplasten eindrangen, z. B. Acetamid und Succinimid. Bei diesen beiden Stoffen ist das Diffusionsgleichgewicht zwischen Aussenlösung und Zellsaft nach etwa 8 Stunden erreicht. Ich bestimmte nun zuerst den osmotischen Wert der Zellen eines *Rhoeo*-Blattes mit Saccharose (0.156 GM), worauf ich eine Lösungsreihe bereitete, die 0.200 GM Acetamid + 0.125—0.190 GM Saccharose enthielt. Die Lösungen waren um 0.005 GM Saccharose abgestuft. Nachdem ich eine Reihe Schnitte des zu untersuchenden Blattes in diese Lösungsreihe gelegt hatte, bestimmte ich nach 12 Stunden die plasmolysierende Grenzkonzentration. Das Ergebnis war 0.158 GM Saccharose + 0.200 GM Acetamid. Das Acetamid war also tatsächlich, wie zu erwarten war, bis zur Konzentrationsgleichheit in den Zellsaft eingedrungen. Hierauf brachte ich die Schnitte aus der obengenannten Acetamid-Saccharosereihe in eine ganz entsprechende Succinimid-Saccharosereihe (alle Konzentrationen wie oben, nur Succinimid an Stelle von Acetamid). Die plasmolysierende Grenzkonzentration in dieser Lösungsreihe wurde nach 5′, 10′, 15′, 20′, 30′, 40′, 50′, 60′, 90′, 120′, 180′, 240′, 8 St. und 12 St. bestimmt. Hierbei stellte ich fest, dass die mittels der Acetamid-Saccharosereihe bestimmte plasmolysierende Grenzkonzentration 0.158 GM Saccharose (+ 0.200 GM Acetamid) fast unverändert blieb; bei den obenerwähnten Beobachtungszeiten schwankte sie zwischen 0.156 und 0.160 GM Saccharose (+0.200 GM Succinimid). — Es liegt auf der Hand, dass, sobald man die Zellen in die Succinimid-Saccharosereihe legt, das Succinimid auf die gewöhnliche, festgestellte Art in die Zellen einzudringen anfängt. *Da jedoch diese Endosmose keine nennenswerte Veränderung des osmotischen Wertes der mit Acetamid behandelten Zellen bewirkt, dürfte es klar sein, dass Acetamid gleichzeitig mit gleicher Geschwindigkeit aus den Zellen exosmiert.* Ein Sinken der plasmolytischen Grenzkonzentration in der Succinimid-Saccharosereihe würde bewiesen haben, dass Acetamid rascher exosmiert, als Succinimid endosmiert, und ein Steigen dieser Grenzkonzentration würde auf das umgekehrte Geschwindigkeitsverhältnis deuten. — Da ich früher nachgewiesen hatte, dass Acetamid und Succinimid beide fast gleich

rasch in die *Rhoeo*-Zellen endosmieren, ziehe ich aus dem Gesagten fernerhin den Schluss, dass 1) *Acetamid ebenso rasch aus den Rhoeo-Zellen exosmiert, wie es in sie hinein endosmiert.*

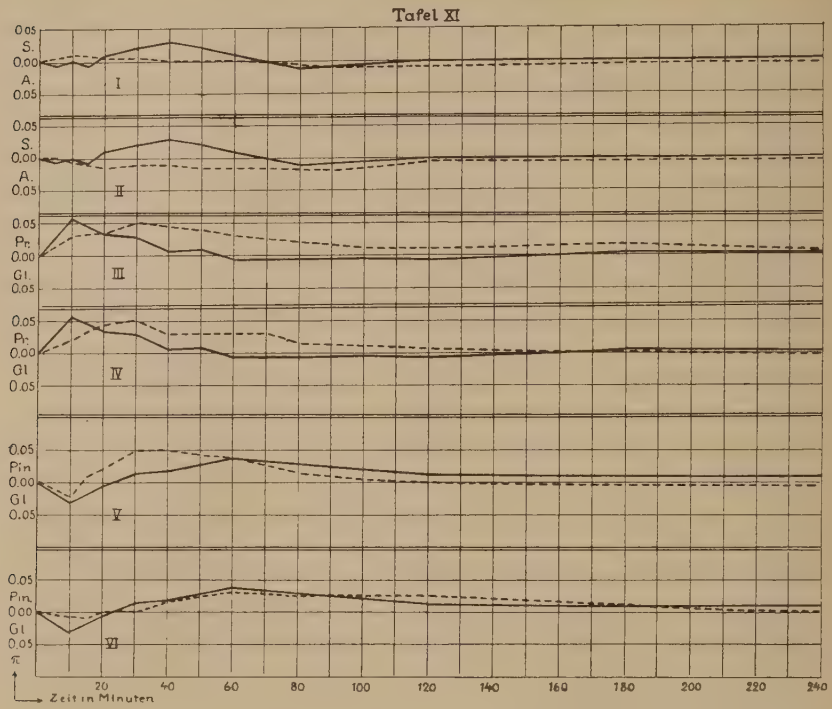
In ganz entsprechender Weise untersuchte ich auch die Exosmose des Succinimids und stellte dabei fest, dass diese Verbindung aus den Zellen ebenso rasch exosmierte, wie Acetamid in sie hinein endosmierte; hieraus folgere ich weiter, dass 2) *auch die Exosmose- und die Endosmosegeschwindigkeiten von Succinimid gleich gross sind.*

Als zweites Verbindungspaar benutzte ich nun Äthylenglykol und Pinakonhydrat, von denen ich, wie aus der Tabelle auf S. 87 hervorgeht, festgestellt hatte, dass sie annähernd gleich schnell in die *Rhoeo*-Zellen endosmieren. Das Ergebnis war dem mit Acetamid und Succinimid erhaltenen analog: es wurde festgestellt, dass sowohl 3) *Pinakonhydrat wie* 4) *Äthylenglykol ebenso rasch aus den Zellen exosmieren, wie sie in diese hinein endosmieren.*

Schliesslich wählte ich für meine Exosmoseexperimente zwei Verbindungen, deren plasmolysierende Wirkung auf *Rhoeo*-Zellen meiner Beobachtung zufolge etwas verschieden gross ist, nämlich Äthylenglykol und Propionamid. Aus Tabelle II, S. 87, ergibt sich, dass Propionamid namentlich im Anfang des Versuchs die Zellen stärker plasmolysiert als Äthylenglykol, so dass es dabei langsamer als Äthylenglykol zu permeieren scheint. — Zunächst untersuchte ich die Exosmose von Propionamid durch Vergleichen mit der Äthylenglykolendosmose. Hierbei waren die Schnitte, deren osmotischer Wert mit reinen Saccharoselösungen zu 0.158 GM bestimmt worden war, 8 Stunden in der Reihe 0.125—0.185 GM Saccharose + 0.200 GM Propionamid (Konzentrationsunterschied 0.005 GM Saccharose.) Die plasmolysierende Grenzkonzentration der Zellen wurde nun wieder zu 0.158 GM Saccharose (+0.200 GM Propionamid) festgestellt, und die Schnitte wurden dann in eine zweite, ebensolche Lösungsreihe übergeführt, die anstatt Propionamid die gleiche Konzentration Äthylenglykol enthielt. Nun fängt das in den Zellen befindliche Propionamid an, aus ihnen heraus zu exosmieren, und umgekehrt das Äthylenglykol aus der Aussenlösung in die Zellen zu dringen. Dabei geht die Plasmolyse zuerst deutlich ein wenig zurück — die plasmolysierende Grenzkonzentration steigt während 30′—40′ auf 0.168—0.167 GM Saccharose (+0.200 GM Äthylenglykol) —, dann verschiebt sich aber die Grenzkonzentration in umgekehrter Richtung, so dass sie nach 4 St. 0.159 GM Saccharose (+0.200 GM Äthylenglykol), also wieder fast den ursprünglichen Wert beträgt. — Demzufolge ist es klar, dass der osmotische Wert der Zellen in den Saccharose-Äthylenglykollösungen sich anfangs *vergrössert* hat. Dies lässt sich zweifellos am einfachsten so erklären, dass 5) *Äthylenglykol ein wenig rascher in die Zellen endosmiert, als Propionamid aus ihnen heraus exosmiert.*

Nachdem ich zu diesem Ergebnis gekommen war, erachtete ich es ferner als notwendig, auf die obengeschilderte Weise, aber in umgekehrter Reihenfolge, festzustellen, dass 6) *auch Äthylenglykol ein wenig rascher aus den Zellen exosmiert, als Propionamid in sie hinein endosmiert.* Aus den Ergebnissen 5) und 6) ziehe ich den Schluss, dass 7) *Propionamid mit gleicher Geschwindigkeit sowohl exosmiert wie endosmiert.*

Von den geschilderten Exosmoseversuchen erhalten wir am besten eine Vorstellung durch eine graphische Darstellung derselben. Diese findet sich auf



Tafel XI. Als erstes (I) ist darauf das Ergebnis des Acetamid-Succinimidversuchs wiedergegeben. Die ausgezogene Linie gibt die Unterschiede der π-Werte der reduzierten Endosmosekurven dieser Verbindungen an und zwar in der Weise, dass z. B. im Teil I ein Ansteigen der Kurve oberhalb der 0-Linie bedeutet, dass der π-Wert des Succinimids grösser als der des Acetamids ist. So z. B. besagen die Zeichen der Tafel, dass nach Verlauf von 15′ der π-Wert von Succinimid um 0.005 kleiner ist als der von Acetamid; hiernach zu urteilen, würde also Succinimid bis zu diesem Zeitpunkt ein klein wenig rascher in die Zellen permeiert sein als Acetamid. Nach 40′ sehen wir wiederum, dass der π-Wert von Acetamid um 0.030 kleiner ist

als der entsprechende Wert von Succinimid. Gerade aus den geringen Unterschieden der π-Werte folgere ich, dass Acetamid und Succinimid derartig gleich rasch in die *Rhoeo*-Zellen permeieren, dass man in dieser Hinsicht irgendwelchen Unterschied mit Sicherheit nicht feststellen kann. Die punktierte Linie in Teil I der Tafel XI zeigt wiederum, dass die Exosmose von Acetamid, im Vergleich zur Endosmose von Succinimid, — wie an den π-Wertunterschieden festzustellen ist — beinahe ebenso rasch erfolgt ist. In Teil II der Tafel XI stelle ich einen ebensolchen Vergleich zwischen der Geschwindigkeit von Succinimidexosmose und von Acetamidendosmose dar; das Ergebnis stimmt hier mit dem obigen überein, natürlich ohne Berücksichtigung der ganz kleinen π-Wertunterschiede, die schon mit der Ausführung eines einzelnen, vergleichenden Versuchs unvermeidlich verknüpft sind. — Die Teile III und IV der Tafel XI veranschaulichen auf die obengeschilderte Weise die Permeiergeschwindigkeitsverhältnisse von Äthylenglykol und Propionamid. Von diesen Verbindungen endosmiert, wie gesagt, meines Erachtens Äthylenglykol ein wenig rascher in die *Rhoeo*-Zellen als Propionamid; dies ist aus der zusammenhängenden Linie, die an den betreffenden Stellen der Tafel eingezeichnet ist, ersichtlich. Ferner habe ich festgestellt, dass Äthylenglykol etwas rascher in die Zellen endosmiert, als Propionamid aus denselben exosmiert (Teil III), und schliesslich machte ich auch die Beobachtung, dass die Äthylenglykolexosmose (Teil IV) etwas rascher stattfindet als die Propionamidendosmose. — Wohl den interessantesten Teil von Tafel X bilden die Abteilungen V und VI, d. h. der Vergleich von Äthylenglykol und Pinakonhydrat. Wenn wir an den betreffenden Stellen die zusammenhängende Linie, welche die π-Wertunterschiede der reduzierten Endosmosekurven dieser Verbindungen darstellt, betrachten, so scheint das Permeieren von Pinakonhydrat etwa bis zu 20—25 Minuten nach Versuchsbeginn ein wenig rascher zu sein, worauf dann wieder die Äthylenglykolendosmose rascher erscheint. Auf Tafel V, S. 44, ist dieser Unterschied hinsichtlich der Form der Plasmolysekurven von Äthylenglykol und Pinakonhydrat bereits graphisch dargestellt, und auf S. 42 und 88 ist die Ursache derselben erklärt. — Sehr interessant war die Feststellung, dass auch die Exosmose von Äthylenglykol und Pinakonhydrat aus den Zellen offenbar auf die gleiche Weise geschieht, — ein Umstand, den die punktierten Linien der Teile V und VI von Tafel XI erweisen. Mit anderen Worten: auch die Pinakonhydratexosmose scheint bei Beginn des Versuchs (etwa 15—20 Minuten lang) ein wenig rascher zu erfolgen als die Äthylenglykolendosmose (Teil VI); nach diesem Zeitpunkt scheint wiederum die Äthylenglykolendosmose rascher zu sein. Ganz ebenso erkennt man aus Teil V, Tafel XI, das Verhältnis der Endosmosegeschwindigkeit von Pinakonhydrat zur Exosmosegeschwindigkeit von Äthylenglykol. — Die Exosmoseversuche mit Äthy-

lenglykol und Pinakonhydrat unterstützen unter diesen Umständen meine Erklärung betreffs der Form der Plasmolysekurven von zwei ihrem Molekularvolumen nach sehr verschieden grossen, aber ziemlich gleich rasch permeierenden Verbindungen (siehe S. 42 und 88).

Alle in diesem Kapitel dargelegten Ergebnisse zeigen, dass *die Exosmose sämtlicher von mir in dieser Hinsicht untersuchten chemischen Verbindungen ganz ebenso rasch wie die Endosmose derselben Verbindungen stattfindet.* Auch dieser Umstand spricht sehr dafür, dass die Permeation der untersuchten Verbindungen im wesentlichen einen Diffusionsvorgang darstellt und nicht auf eine aktive Betätigung der lebenden Protoplasten zurückzuführen ist.

3. *Vergleich der Permeierfähigkeiten der untersuchten Verbindungen.*

a. Vergleich der Permeierfähigkeiten auf Grund der P-Werte.

Wie vorhin hervorgehoben worden ist, können nicht die in der Zeiteinheit permeierten absoluten Stoffmengen an sich als ein exaktes Mass des Permeiervermögens der betreffenden Verbindungen angesehen werden. Es muss vielmehr auch die Grösse des treibenden Diffusionsgefälles berücksichtigt und in Rechnung gestellt werden. Man gelangt auf diesem Wege dazu, in allen denjenigen Fällen, wo die Permeation dem Diffusionsgesetz gehorcht, die nach der auf S. 65 angegebenen Permeationsgleichung berechneten Permeationskonstanten P als rationelles, auch quantitativ befriedigendes Mass des Permeiervermögens aufzustellen.

Wenn es nun gilt, die Permeierfähigkeiten der in vorliegender Arbeit untersuchten 39 Verbindungen untereinander zu vergleichen, wäre dieser Vergleich also unzweifelhaft am besten auf Grund der P-Werte dieser Verbindungen vorzunehmen. Leider ist dies jedoch nicht möglich, da ich aus Gründen, die vorhin auseinandergesetzt sind, nur hinsichtlich weniger Stoffe im stande war, die in bestimmten Zeitabschnitten aufgenommenen Stoffmengen einigermassen exakt zu bestimmen, und zwar mittelst der auf S. 49 und 57 angegebenen approximativen Gleichung. Nur für diese etwa sechs Verbindungen lässt sich somit auch der P-Wert mit befriedigender Genauigkeit berechnen.

Auf S. 71 wurden bereits P-Werte dieser sechs Verbindungen mitgeteilt. Wie schon an der betreffenden Stelle betont wurde, sind jedoch die dort angegebenen P-Werte nicht vollkommen geeignet, um als Grundlage für den Vergleich der Permeierfähigkeiten der verschiedenen Verbindungen untereinander zu dienen, da die betreffenden Versuche mit verschiedenen Blättern an verschiedenen Tagen ausgeführt wurden. Um besser miteinander

vergleichbare P-Werte zu bekommen, kann man von den π-Werten der reduzierten Plasmolysekurven (bzw. der Tabelle II, S. 87) ausgehen. Diese Werte stellen ja Mittelwerte aus mehreren Versuchen dar und sind somit auch möglichst wenig von zufälligen Versuchsfehlern beeinflusst. Da jedoch die P-Werte etwas verschieden ausfallen, je nachdem, welchen Punkt der Plasmolysekurve man der Berechnung zugrunde legt (vgl. S. 71), so muss man, um zu gut vergleichbaren Werten zu gelangen, einander entsprechende Punkte der verschiedenen Kurven wählen. Diesem Prinzip gemäss wurden für die Berechnung der in Tabelle I angegebenen P-Werte diejenige Punkte der reduzierten Kurven gewählt, die einem π-Wert von rund 0.65 (bei Dicyandiamid 0.69) entsprachen[1]). Der besseren Übersicht wegen sind in der Tabelle neben den direkt aus der Permeationsgleichung (S. 65) berechneten absoluten P-Werten auch relative Permeationskonstanten eingetragen, welche angeben, um wieviel mal grösser das Permeiervermögen der betreffenden Verbindung als das Permeiervermögen des Harnstoffs ist.

Tabelle I.

Miteinander vergleichbare Permeationskonstanten einiger Verbindungen.

Verbindung	Permeationskonstante absolut	relativ
Dicyandiamid	0.046	0.78
Harnstoff	0.059	1.00
Laktamid	0.073	1.24
Schwefelharnstoff	0.103	1.74
Methylharnstoff	0.185	3.14
Glycerin	0.260	4.41

Auf Grund dieser Zahlen lässt sich somit sagen, dass — gleichgrosse treibende Diffusionsgefälle vorausgesetzt — Laktamid 1.24 mal, Schwefelharnstoff 1.74 mal, Methylharnstoff 3.14 mal und Glycerin 4.41 mal schneller als Harnstoff in die Epidermiszellen von *Rhoeo* permeiert, während Dicyandiamid 1.28 mal langsamer als Harnstoff eindringt. Natürlich gelten diese Angaben nur innerhalb der vorhin diskutierten Fehlergrenzen der plasmolytischen Methode.

Um die Permeierfähigkeiten verschiedener Verbindungen auf Grund ihrer P-Werte zu vergleichen, kann man auch einen einfacheren Weg einschlagen. Wenn man nämlich einmal festgestellt hat, dass die Permeation

[1]) Die P-Werte, die Poijärvi (55, S. 83) auf Grund meiner Plasmolysekurven berechnet hat, weichen etwas von den hier mitgeteilten P-Werten ab, da er für seine Berechnung einander nicht ganz entsprechende Punkte gewählt hat.

der miteinander zu vergleichenden Verbindungen nach dem Diffusionsgesetz geschieht und dass nach erreichtem Diffusionsgleichgewicht annähernde Konzentrationsgleichheit in bezug auf die permeierenden Stoffe zwischen Zellsaft und Aussenlösung vorhanden ist, so braucht man nicht, um die Permeierfähigkeiten dieser Verbindungen zu vergleichen, die ganzen Plasmolysekurven zu ermitteln. Vielmehr kann man sich mit *einem Punkt* jeder Kurve begnügen. Dadurch gewinnt man den Vorteil, dass man mit wenigen Lösungen auskommen und daher bequem *mehrere verschiedene Stoffe gleichzeitig an Schnitten desselben Blattes* prüfen kann. Selbstverständlich muss der zu untersuchende Punkt der Plasmolysekurve so gewählt werden, dass die vorhin besprochenen Fehlerquellen, die immer mit der Schätzung der permeierten Mengen auf Grund plasmolytischer Daten verknüpft sind, möglichst wenig störend einwirken. Am besten eignet sich wohl daher zu diesem Zweck derjenige Punkt, der dem π-Wert 0.5 entspricht. (Wenn es sich um eine Verbindung handelt, für die die auf S. 49 und 57 angegebene Gleichung zutrifft, gibt dieser Punkt ja an, dass die Konzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft die Hälfte der Konzentration desselben Stoffes in der Aussenlösung erreicht hat.)

Ich habe (am 22. I. 1925) einen derartigen Versuch bei 18—21° C mit Harnstoff, Schwefelharnstoff, Methylharnstoff und Glycerin ausgeführt. Ich bestimmte dabei zuerst den osmotischen Wert der Zellen mit einer Saccharosereihe zu 0.210 GM. Dann bereitete ich aus jeder der zu untersuchenden Verbindungen eine 0.420-norm. Lösung. Diese Konzentration war, wie ersichtlich, so gewählt, dass die Deplasmolyse vollendet ist, wenn die Zellsaftkonzentration um die Hälfte der Aussenlösungskonzentration zugenommen hat. Hierauf legte ich einen Schnitt in je eine Lösung, wobei die Zellen in allen Lösungen sehr bald stark plasmolysiert wurden. Dann verfolgte ich die Deplasmolyse in den verschiedenen Lösungen bis zu dem Zeitpunkt, wo ich den Plasmolysegrad der zu prüfenden Zellen des Schnittes zu $^1/_2$ feststellen konnte. Die so gefundenen Zeitwerte und die hieraus berechneten P-Werte waren:

Verbindung	Zeit	Permeationskonstante absolut	relativ
Harnstoff	14 St. 2′	0.049	1.00
Schwefelharnstoff	7 » 48′	0.089	1.82
Methylharnstoff	4 » 11′	0.166	3.39
Glycerin	3 » 9′	0.220	4.49

Noch ein anderes Mal (am 28. 12. 1928) verglich ich in ähnlicher Weise die Permeierfähigkeiten der genannten vier Verbindungen untereinander. Diesmal wurde der Versuch jedoch in einem dunklen Thermostaten bei

23—24° C ausgeführt. Das Ergebnis geht aus folgender Zusammenstellung hervor:

Verbindung	Zeit	Permeationskonstante absolut	relativ
Harnstoff	10 St. 15′	0.068	1.00
Schwefelharnstoff	5 » 40′	0.122	1.79
Methylharnstoff	3 » 15′	0.213	3.13
Glycerin	2 » 6′	0.330	4.85

Die Übereinstimmung der zu verschiedenen Zeiten und in verschiedener Weise durchgeführten Vergleiche der relativen Permeierfähigkeiten ist mithin sehr befriedigend. Es ist interessant festzustellen, dass dies auch dann zutrifft, wenn in den verschiedenen Versuchen die absoluten P-Werte bedeutende Unterschiede aufweisen. Die die Permeabilität vergrössernden bzw. vermindernden Faktoren scheinen also in den untersuchten Fällen auf das Permeiervermögen der verschiedenen Stoffe gleichsinnig eingewirkt zu haben.

b. Vergleich der Permeierfähigkeiten auf Grund des Gesamtverlaufs der Plasmolysekurven.

Wenn es sich um Verbindungen handelt, bei denen es nicht gelingt, die in bestimmten Zeitabschnitten permeierten Mengen einigermassen genau zu schätzen, so besteht keine Möglichkeit, auf Grund plasmolytischer Versuche anzugeben, um wieviel mal grösser das Permeiervermögen einer Verbindung als das einer anderen ist.

Es bleibt unter solchen Umständen nichts anderes übrig, als von dem Grundsatz auszugehen, dass ein grösseres Plasmolysiervermögen im allgemeinen ein geringeres Permeiervermögen bedeutet, und so auf Grund des Gesamtverlaufs der Plasmolysekurven zu entscheiden zu suchen, welches die *Reihenfolge der Permeierfähigkeiten* der verschiedenen untersuchten Verbindungen ist. Auch diese Aufgabe, die unter sorgfältiger Berücksichtigung der auf S. 50—57 behandelten Gesichtspunkte erfolgen muss, ist nicht ganz leicht zu lösen.

Tabelle II zeigt das Ergebnis meines Versuchs, die geprüften Verbindungen nach abnehmendem Permeiervermögen in einer fortlaufenden Reihe zu ordnen. Wir sehen darin in Spalte 1 die dem Permeiervermögen der untersuchten Verbindung entsprechende laufende Nummer und in Spalte 2 den Namen der Verbindung. In solchen Fällen, wo es nicht möglich erscheint, auf Grund der ausgeführten Versuche mit Sicherheit zu entscheiden, welche von zwei oder mehreren Verbindungen ein grösseres Permeiervermögen hat, sind die Namen dieser Verbindungen durch geschwungene Klammern

miteinander vereinigt. Spalte 3 wiederum gibt die Molrefraktionen der Verbindungen an und Spalte 4 die Molekulargewichte. Der maximale osmotische Koeffizient (der o-Wert im Sinne FITTING's) jeder Verbindung ist in Spalte 5 eingetragen, und Spalte 6 schliesslich zeigt die nach Verlauf gewisser Zeiträume (15′, 30′, 60′, 120′, 240′, 480′) bestimmten plasmolytischen Koeffizienten (π-Werte). — bedeutet, das die betreffende Bestimmung nicht ausgeführt worden ist, sei es wegen der Giftigkeit der betreffenden Verbindung (z. B. Trimethylcitrat und i-Valeramid nach 480′ und ∞′) oder aus anderen Gründen. In Spalte 6 bedeutet ∞′, dass die Bestimmung nach etwa 20—24 Stunden gemacht worden ist; von Erythrit bis Saccharose wurde diese Bestimmung nach Verlauf von genau 24 Stunden ausgeführt.

In diesem Zusammenhang könnten wir nun die Frage aufwerfen, ob man vielleicht mit ebenso gutem oder sogar besserem Erfolg die osmotischen (isotonischen) Koeffizienten als Kriterium des Permeiervermögens der verschiedenen Verbindungen hätte anwenden können. In dieser Hinsicht gehen bekanntlich die Ansichten der verschiedenen Forscher sehr auseinander. LEPESCHKIN betrachtet auch in einer von seinen letzten diesbezüglichen Veröffentlichungen (35) die isotonischen Koeffizienten als ein geeignetes Mass des Permeiervermögens. FITTING dagegen bestreitet die Zuverlässigkeit der betreffenden Methode (15—17). Er kam, indem er das Permeieren des Glycerins in verschiedene Pflanzenzellen auf plasmolytischem Wege verfolgte, zu dem auffallenden Ergebnis, dass irgendwelche Beziehungen zwischen der Grösse des osmotischen Koeffizienten o von Glycerin und der Grösse der Permeabilität der betreffenden Zellen für diesen Stoff nicht bestehen, sofern man die Geschwindigkeit des Plasmolyseausgleichs als Massstab der Durchlässigkeit benutzt.

Vergleichen wir die in Tabelle II angegebene Reihenfolge der Permeierfähigkeiten der untersuchten Verbindungen mit den o-Werten der Spalte 5, so können wir deutliche Beziehungen zwischen ihnen feststellen; d. h. je rascher die untersuchte Verbindung nach Ausweis ihrer gesamten Plasmolysekurve zu permeieren scheint, desto kleiner ist im allgemeinen auch ihr maximaler plasmolytischer Koeffizient. Diese Regel trifft so genau zu, dass, wenn man die untersuchten Verbindungen ausschliesslich nach der Grösse ihrer o-Werte ordnen wollte, man im grossen und ganzen die in Tabelle II angegebene Reihenfolge bekäme.

Man könnte auf Grund dieser Feststellung zunächst daran denken, den osmotischen Koeffizienten als ein etwa ebenso genaues Kriterium des Permeiervermögens zu betrachten wie die Deplasmolysegeschwindigkeit, bezogen auf das jeweilige Diffusionsgefälle zwischen Aussenlösung und Zellsaft. Eine genauere Betrachtung zeigt jedoch, dass dem nicht so ist. Ich

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6 π						
Nr.	Name der Verbindung	MR_D	M	o	15′	30′	60′	120′	240′	480′	∞′
1	Wasser	3.7	18.0	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Triäthylcitrat	64.7	276.2	0.003	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	—	—
3	Methylalkohol	8.2	32.0	0.008	0.007	0.006	0.004	0.002	0.002	—	0.001
4	Äthylalkohol	12.8	46.1	0.014	0.012	0.013	0.009	0.004	0.000	—	0.003
5	Äthylurethan	21.1	89.1	0.017	0.012	0.017	0.010	0.002	0.000	—	-0.002
6	Methylurethan	16.5	75.1	0.036	0.026	0.036	0.018	0.005	0.002	0.001	-0.006
7	Antipyrin	56.1	188.2	0.068	0.060	0.068	0.043	0.018	0.000	—	-0.003
8	Trimethylcitrat	50.3	234.2	0.090	0.083	0.055	0.038	0.018	0.007	—	—
9	i-Valeramid	28.7	101.1	0.145	0.117	0.082	0.050	0.025	0.000	—	—
10	n-Butyramid	24.1	87.1	0.170	0.128	0.087	0.058	0.024	0.002	—	-0.009
11	Äthylenglykol	14.4	62.1	0.229	0.205	0.137	0.057	0.020	0.000	0.000	-0.015
12	Pinakonhydrat	55.3[2]	226.2[2]	0.199	[0.189][1]	[0.151]	0.095	0.033	0.010	0.004	0.002
13	Propionamid	19.5	73.1	0.287	[0.253]	0.167	0.052	0.014	0.002	0.000	-0.012
14	Formamid	10.6	45.0	0.312	0.280	0.198	0.062	0.020	0.000	0.000	0.000
15	α-Monochlorhydrin	24.0	110.5	0.282	[0.273]	[0.212]	0.101	0.024	0.004	0.001	0.000
16	Diacetin	39.4	176.1	0.217	[0.214]	[0.205]	0.160	0.095	0.050	0.010	-0.008
17	α-Glycerinäthyläther	30.0	120.1	0.307	[0.280]	0.302	0.188	0.085	0.020	0.000	0.000
18	Acetamid	14.9	59.1	0.530	0.500	0.338	0.147	0.055	0.015	0.002	-0.020
19	Succinimid	27.1[3]	117.1[3]	0.531	0.495	0.360	0.157	0.055	0.017	0.001	-0.018
20	Diäthylharnstoff	32.7	116.1	0.492	[0.490]	0.457	0.253	0.105	0.055	0.013	-0.015
21	Dimethylharnstoff	23.4	88.1	0.516	[0.484]	0.485	0.348	0.180	0.090	0.040	0.011
22	Monacetin	30.0	134.1	0.685	[0.651]	0.675	0.588	0.471	0.340	—	—
23	Glycerin	20.6	92.1	0.780	[0.776]	[0.778]	0.740	0.622	0.447	0.238	—
24	Methylharnstoff	18.5	74.1	0.856	[0.815]	0.855	0.798	0.675	0.519	0.309	—
25	Schwefelharnstoff	20.9	76.1	0.872	[0.811]	0.872	0.834	0.752	0.675	0.510	—
26	Laktamid	21.0	89.1	0.862	[0.797]	0.862	0.830	0.781	0.727	0.590	—
27	Harnstoff	13.7	60.1	0.885	[0.828]	0.885	0.864	0.823	0.770	0.632	—
28	Dicyandiamid	20.7	84.1	0.890	0.814	0.879	0.873	0.847	0.794	0.689	—
											24 St.
29	Erythrit	26.8	122.1	0.903	—	—	0.895	0.903	0.894	0.872	0.779
30	Arabinose	31.4	150.1	0.914	—	0.857	0.898	0.914	0.910	0.890	0.810
31	Methylglukosid	41.7	194.1	0.964	—	0.944	0.955	0.964	0.964	0.941	0.814
32	Glukose	37.5	180.1	0.979	—	0.946	0.961	0.979	0.977	0.956	0.844
33	Maltose	74.6[3]	360.1[3]	0.974	—	—	0.958	0.974	0.970	0.946	0.863
34	Malonamid	22.9	102.1	0.951	—	[0.875]	0.930	0.951	0.948	0.932	0.898
35	Arbutin	64.6[4]	281.2[4]	0.968	—	—	0.937	0.968	0.968	0.966	—
36	Mannit	39.1	182.1	0.985	—	—	0.977	0.985	0.985	0.976	0.911
37	Laktose	74.6[3]	360.3[3]	0.994	—	0.976	0.989	0.994	0.994	0.991	0.927
38	Salicin	67.3	286.2	0.994	—	—	0.965	0.976	0.992	0.984	0.933
39	Saccharose	70.4	342.2	1.000	—	0.989	0.994	1.000	1.000	0.994	0.937

[1]) Die in Parenthesen stehenden π-Werte sind durch Interpolieren erhalten.
[2]) 6 Moleküle Kristallwasser mit einberechnet.
[3]) 1 Molekül Kristallwasser mit einberechnet.
[4]) $^1/_2$ Molekül Kristallwasser mit einberechnet.

beschränke mich hier darauf, *einen* Gesichtspunkt hervorzuheben: Schon vorhin (S. 42) wurde erwähnt, dass von den Plasmolysekurven zweier etwa gleich schnell permeierender Verbindung von sehr verschieden grossem Molekularvolumen die Kurve der grössermolekularen Verbindung in allen ihren Teilen flacher, die der kleinermolekularen hingegen steiler ist. In derartigen Fällen würde man also das Permeiervermögen des grössermolekularen Stoffes auf Grund seines o-Wertes höher einschätzen als auf Grund der Geschwindigkeit der Plasmolyseabnahme. Wahrscheinlich beruht der erwähnte Unterschied in der Form der Plasmolysekurven darauf, dass die grossmolekularen Verbindungen langsamer durch die Zellmembranen dringen als die kleinmolekularen. Aus diesem Grunde ist die Konzentration der grossmolekularen Verbindungen an der Aussenfläche der Protoplasten anfangs abnorm niedrig, so dass die Plasmolyse zu dieser Zeit zu schwach ausfällt und die anfänglichen π-Werte wie auch der o-Wert verhältnismässig zu klein werden. Auch der Permeationsprozess durch das Plasma wird im Falle einer grossmolekularen Verbindung verlangsamt, weil die Protoplasten von einer verhältnismässig verdünnten Lösung umgeben sind. Dies wirkt wiederum auf die Deplasmolyse verzögernd ein, so dass die letzten π-Werte bei grossmolekularen Stoffen vermutlich zu hoch ausfallen. Alles dies kann zu einem gewissen Grade bei der Schätzung des Permeiervermögens auf Grund des *Gesamtverlaufs* der Plasmolysekurve berücksichtigt werden, während man bei Benutzung des o-Wertes allein als Kriterium des Permeiervermögens unmöglich zu ebenso gut begründeten Ergebnissen gelangen kann. Doch ist unbedingt zuzugeben, dass die diffusionshemmende Wirkung der Zellmembranen unter allen Umständen die Erlangung von mathematisch genauen Zahlenwerten für die Protoplasmapermeabilität auf plasmolytischem Wege unmöglich macht.

Bei den von mir untersuchten Verbindungen lässt sich betreffs der am allerlangsamsten permeierenden Stoffe (Nr. 29—39 der Tabelle II) die Reihenfolge der Permeierfähigkeiten vielleicht am schwersten bestimmen. (Vgl. Tafel VI, S 45.) Es scheint deshalb angebracht, sie hier etwas näher zu behandeln. Richten wir dabei unser Hauptaugenmerk auf die 24 St. nach Versuchsbeginn beobachteten π-Werte, so sehen wir unter den betreffenden Verbindungen Erythrit vielleicht ein wenig rascher permeieren als die anderen. Dann würden Arabinose und Methylglukosid folgen, und nach diesen mit besonders geringen Geschwindigkeitsunterschieden Glukose und Maltose, sowie Malonamid und Arbutin. Am langsamsten permeierend dürften wohl Mannit, Salicin, Laktose und Saccharose sein.

Da jedoch die Plasmolysekurven dieser Verbindungen nur sehr wenig voneinander differieren, müssen in diesem Falle folgende Umstände, die bei den sonstigen Versuchen meistens zu vernachlässigen sind, besonders berücksichtigt werden:

1) Die π-Werte sind in den ausgeführten Versuchen mit volumnormalen Lösungen bestimmt worden, obgleich der osmotische Druck der verschiedenen Lösungen wohl richtiger ihrer Gewichtsnormalität proportional ist (14; 57). Deshalb habe ich die o-Werte dieser langsam permeierenden Verbindungen auf solche, die den gewichtsnormalen Konzentrationen entsprechen, umgerechnet (16, S. 580; 14; 57). Ich bezeichne nach dem Beispiel FITTING's diese mit dem Index gn, jene mit vn. Der o-Wert von Saccharose ist auch hierbei als Einheit $o_{gn}=1$ (siehe S. 37) genommen, und als ihre plasmolysierende Grenzkonzentration ist 0.200 GM (siehe S. 19) gewählt worden.

	o_{vn}	o_{gn}
Saccharose	1.000	1.000
Laktose	0.994	0.990
Salicin	0.994	0.996
Mannit	0.985	1.002
Glukose	0.979	0.998
Maltose	0.974	0.969
Arbutin	0.968	0.970
Methylglukosid	0.964	0.978
Malonamid	0.951	0.977
Arabinose	0.914	0.934
Erythrit	0.903	0.924
Dicyandiamid	0.890	0.917
Harnstoff	0.885	0.914
Laktamid	0.862	0.884
Schwefelharnstoff	0.872	0.899
Methylharnstoff	0.856	0.882
Glycerin	0.780	0.799

Wir sehen, dass die angeführten Koeffizienten im allgemeinen infolge der ausgeführten Umrechnung ein wenig vergrössert sind. Dies betrifft besonders die kleinmolekularen Verbindungen. Diese Umrechnung bewirkt jedoch keine *wesentlichen Veränderungen* in der angenommenen Reihenfolge der Permeierfähigkeiten.

2) Selbst wenn man mit der Gewichtsnormalität der Lösungen rechnet, gelten bekanntlich VAN'T HOFF's osmotische Gesetze trotzdem nicht vollkommen genau für reale, sondern nur für ideale Lösungen. So z. B. sind nach MORSE's Versuchsergebnissen (39; 14, S. 20—21) die osmotischen Drucke von gleich gewichtsnormalen Saccharose- und Glukoselösungen nicht ganz gleich gross, sondern in allen untersuchten Konzentrationen (0.1—1.0 GM) sind die von Saccharose etwas grösser. Bei 10° C erhält er z. B. als Drucke von 0.2-norm. Lösungen: für Saccharose 4.89 und für Glukose 4.76 Atmosphären. Berechnet man hieraus den isotonischen Koeffizienten der Glukose (bezogen auf Saccharose = 1), so ergibt sich $i_{gn}=0.973$, während sich der osmotische Koeffizient der Glukose aus meinen plasmolytischen Versuchen zu $o_{gn}=0.998$ berechnet. Der Umstand, dass ich die Glukose eine Spur schwächer plasmolysierend als die Saccharose fand, braucht somit an sich durchaus nicht anzudeuten, dass Glukose leichter als Saccharose permeierte. Überhaupt lassen die möglichen und zum Teil nachgewiesenen Abweichungen von den Ge-

setzen VAN'T HOFF's es rätlich erscheinen, beim Abschätzen des Permeiervermögens dieser am langsamsten permeierenden Stoffe weniger Gewicht auf die absolute Höhe der π-Werte als auf die Geschwindigkeit von deren *zeitlicher Abnahme* zu legen. — Ein Umstand, der den Einfluss der erwähnten Fehlerquelle auf die Plasmolysekurven auch langsam permeierender Verbindungen vermindert, ist der, dass gerade diese Verbindungen nur in Konzentrationen von etwa 0.15—0.20 GM benutzt sind, während die auffallendsten Abweichungen von VAN'T HOFF's osmotischen Gesetzen vor allem bei sehr konzentrierten Lösungen beobachtet wurden (14).

3) Mit besonderem Nachdruck ist endlich zu betonen, dass bei den mit extrem langsam permeierenden Verbindungen ausgeführten plasmolytischen Versuchen die ungewöhnliche Länge der Versuchszeit das Stattfinden allerhand schwer kontrollierbarer regulatorischer Prozesse und sonstiger Veränderungen innerhalb der Zellen ermöglicht. Z. B. Exosmose- und Katatonoseprozesse können gerade bei derartigen Versuchen verhältnismässig störend einwirken.

Aus den oben dargelegten und ganz besonders aus den unter 3) genannten Gründen betrachte ich die in der Tabelle II unter Nr. 30—39 erwähnten, langsam permeierenden Verbindungen als eine gemeinsame, grosse Gruppe, der sich das wahrscheinlich etwas rascher permeierende Erythrit nahe anschliesst. Es kommt mir zwar wahrscheinlich vor, dass die Reihenfolge der Permeierfähigkeiten dieser Verbindungen ungefähr die in der Tabelle II angegebene ist; als einigermassen *gesichertes* Ergebnis möchte ich aber bloss die Feststellung betrachten, dass alle diese Verbindungen nur äusserst langsam in die untersuchten Zellen permeieren.

Interessant ist, dass die oben mit allem Vorbehalt aufgestellte Reihenfolge der Permeierfähigkeiten der Zuckerarten sehr gut mit den Ergebnissen übereinstimmt, zu denen HÖFLER (23) neulich auf Grund seiner plasmometrischen Messungen an anderen Zellarten gekommen ist. Er findet nämlich nicht nur, dass die untersuchten Pflanzenzellen (z. B. Epidermiszellen von *Gentiana* und *Majanthemum*) für verschiedene Zuckerarten sichtlich permeabel sind, sondern er gibt ferner an, dass Saccharose langsamer als die Monosaccharide (Glukose und Fruktose) in die Zellen permeiert und Maltose ebenso rasch oder ein wenig rascher als die Monosaccharide.

In diesem Zusammenhang sei auch noch auf FLEISCHMANN's Untersuchungen (18) über das Eindringen von mehrwertigen Alkoholen und Zuckerarten in die Blutkörperchen gewisser Tiere, in *Rhoeo*-Zellen und in die Kelchblattzellen von *Hyazinthen* hingewiesen. Wenn es auch FLEISCHMANN wegen der Grobheit seines plasmolytischen Verfahrens nicht gelingt, gerade mit *Rhoeo*-Zellen klare Ergebnisse zu erzielen, so zieht er doch, vor allem auf Grund seiner Blutkörperchenversuche, die allgemeine Schlussfolgerung, dass die Zuckerarten in alle erwähnten Zellen rascher eindringen als die entsprechenden mehrwertigen Alkohole mit gleicher C-Atomzahl. Aus mei-

nen eigenen Ergebnissen geht hervor, dass tatsächlich Mannit ein wenig langsamer auch in *Rhoeo*-Zellen einzudringen scheint als Glukose; dies Ergebnis ist demnach geeignet, FLEISCHMANN's Behauptung auch bezüglich der *Rhoeo*-Zellen zu stützen.

D. Die Permeabilitätstheorien.

1. *Beziehungen zwischen Permeiervermögen und chemischer Konstitution.*

Zunächst sei hier betont, dass zwischen der chemischen Konstitution der untersuchten Verbindungen und deren Permeiervermögen ganz regelmässige Beziehungen vorhanden sind, auf die schon OVERTON (47—48; 53) aufmerksam gemacht hat. Die wichtigsten dieser Beziehungen sind:

1) Alkoholische Hydroxylgruppen verkleinern das Permeiervermögen der Verbindungen. Beispiele: Äthylenglykol $<<$ [1]) Äthylalkohol; Laktamid $<<$ Propionamid; Glycerin $<<$ Monochlorhydrin.

2) Die den Säureamiden eigene Atomgruppierung verlangsamt das Permeieren noch mehr als die alkoholische Hydroxylgruppe. Beispiele: Acetamid < Äthylenglykol; Malonamid < Laktamid < Glycerin.

3) Der Ersatz der H-Atome der Hydroxyle durch Alkyle oder Säureradikale vergrössert die Permeiergeschwindigkeit. Beispiele: Glycerin < Monacetin < Diacetin; Glycerin $<<$ Glycerinmonoäthyläther.

4) Der Ersatz der H-Atome der Amidogruppe durch Alkyle vergrössert die Permeiergeschwindigkeit. Beispiel: Harnstoff < Methylharnstoff < Dimethylharnstoff.

5) Überhaupt eine Verlängerung der Kohlenstoffkette vergrössert die Permeiergeschwindigkeit. Beispiele: Dimethylharnstoff < Diäthylharnstoff; Acetamid < Propionamid < Butyramid < Valeramid; Methylurethan < Äthylurethan; Trimethylcitrat < Triäthylcitrat. — *Ausnahmen*: Acetamid < Formamid; Äthylalkohol < Methylalkohol. (Auf diese Ausnahmen komme ich noch ausführlich zurück.)

6) Der Ersatz eines O-Atoms durch ein S-Atom vergrössert die Permeiergeschwindigkeit. Beispiel: Harnstoff < Schwefelharnstoff.

Die ermittelten gesetzmässigen Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution der untersuchten Verbindungen und ihrem Permeiervermögen weisen darauf hin, dass die Permeierfähigkeit von gewissen physikalisch-chemischen Eigenschaften der permeierenden Verbindungen abhängt. Es kommen dabei vor allem Molekularvolumen, Oberflächenaktivität und Löslichkeit der Verbindungen in Betracht. Diesen Eigenschaften und ihren Beziehungen zum Permeiervermögen wollen wir uns jetzt zuwenden.

[1]) $<$ bedeutet: permeiert langsamer als; $<<$ bedeutet: permeiert viel langsamer als.

2. *Erfolgt das Permeieren der untersuchten Verbindungen in die Zellen von Rhoeo gemäss der reinen Ultrafiltertheorie?*

Namentlich vom Standpunkt der Ultrafiltertheorie aus ist es wichtig, die Teilchengrösse der plasmolytisch untersuchten Verbindungen in ihren wässerigen Lösungen zu kennen. Zum Vergleich der Molekularvolumgrössen verschiedener Verbindungen habe ich ihre Molrefraktionen, bezogen auf die FRAUNHOFER'sche D-Linie, berechnet (42, S. 358—366; 7, S. 25—27). Diese MR_D-Werte sind in Spalte 3 der Tabelle II, S. 87, angeführt.

Da nur für sehr wenige der von mir angewandten Verbindungen die Molrefraktion experimentell bestimmt worden ist (solche sind Methylalkohol, Äthylalkohol, Formamid, Äthylenglykol und Triäthylcitrat; 31, S. 973—982), habe ich die Molrefraktionen aller anderen auf Grund der entsprechenden Atomrefraktionen (42, S. 361) unter Berücksichtigung eventueller Doppelbindungen berechnet (12; 13; 31, S. 985—986). In den untersuchten kristallwasserhaltigen Verbindungen ist die Refraktion der Kristallwassermoleküle der eigentlichen Molrefraktion der betreffenden Verbindung hinzugefügt worden.

Wenn die gesuchte Atomrefraktion in den angewandten Tabellen nicht angeführt war, musste eine möglichst gleichartige Atomrefraktion benutzt werden. Diese Fälle sind: 1. Als Wert der Stickstoffatomrefraktion der primären Amide wurde der entsprechende Stickstoffwert der primären Amine genommen (7, S. 27). 2. Als Werte der Stickstoffatome des Pyrazolonringes von Antipyrin wurden 2.840 und 4.363 gewählt (31, S. 986). 3. Als Wert der Schwefelatomrefraktion von Schwefelharnstoff wurde 9.400 genommen (56). Die kleinen Ungenauigkeiten, die aus diesen Umständen in der Grösse der Verhältniszahlen der Molekularvolumina der entsprechenden Verbindungen entstehen, sind bedeutungslos.

Da die Moleküle in wässerigen Lösungen hydratisiert und assoziiert auftreten können, und da diese Erscheinungen besonders betreffs organischer Verbindungen nicht genügend bekannt sind, darf man nicht vergessen, dass die auf obige Weise aus der Molrefraktion berechneten Grössenverhältnisse der Moleküle der untersuchten Verbindungen wohl nicht in jedem Fall hinsichtlich der in den wässerigen Lösungen dieser Verbindungen vorkommenden Moleküle und Molekülkomplexe stimmen. Bei plasmolytischen Untersuchungen kommen indessen gerade die wässerigen Lösungen in Frage.

Ein Blick auf Tabelle II zeigt sofort, dass irgendwelche durchgehende Beziehungen zwischen Permeiervermögen und Molrefraktion sicher nicht bestehen. Dass die reine Ultrafiltertheorie auch nicht entfernt die beobachteten Permeationserscheinungen erklären kann, geht z. B. aus folgenden Beispielen hervor:

1) Rasch permeieren die grossmolekularen Verbindungen: Triäthylcitrat, Antipyrin, Trimethylcitrat und Pinakonhydrat.

2) Trotz seines relativ kleinen Molekularvolumens permeiert Malonamid äusserst langsam.

3) Die untersuchten, derselben homologen Reihe angehörenden Amide: Acetamid, Propionamid, Butyramid und Valeramid permeieren desto rascher, je grösser ihr Molekularvolumen ist. Nur Formamid bildet eine Ausnahme hiervon, indem es rascher als Acetamid permeiert.

4) Harnstoff und seine Derivate: Methylharnstoff, Dimethylharnstoff und Diäthylharnstoff permeieren desto rascher, je grösser ihr Molekularvolumen ist.

5) Glycerin und seine Acetylderivate: Monacetin und Diacetin permeieren ebenfalls in einer der Ultrafiltertheorie völlig entgegengesetzten Geschwindigkeitsreihenfolge. Auch Glycerinmonoäthyläther permeiert bedeutend rascher als Glycerin.

Diese Reihe von Beweisen gegen die Ultrafiltertheorie könnte noch beträchtlich fortgesetzt werden. Die angeführten Beispiele mögen aber genügen. *Auf Grund meiner Ergebnisse ist es ganz ausgeschlossen, das Permeieren der untersuchten Verbindungen in die Rhoeo-Zellen nach der reinen Ultrafiltertheorie zu erklären.* Damit fällt wohl auch der bereits auf Grund alter, bekannter Tatsachen als ziemlich aussichtslos zu bezeichnende Versuch von Ruhland und Hoffmann (70), die Ultrafiltertheorie als allgemeine Grundlage der Erklärung der Protoplasmapermeabilität aufzustellen. Falls die Resultate von Ruhland's und Hoffmann's Untersuchungen mit *Beggiatoa*-Zellen richtig sind, repräsentieren die *Beggiatoa*- und *Rhoeo*-Protoplasten hinsichtlich der Permeabilität sehr stark voneinander abweichende Typen.

In einem späteren Abschnitt wird gezeigt werden, dass immerhin auch die Protoplasten von *Rhoeo* in ganz bestimmten Fällen eine Ultrafilterwirkung gegenüber permeierenden Stoffen entfalten.

3. *Das Verhältnis der Oberflächenaktivität der untersuchten Verbindungen zu ihrem Permeiervermögen.*

Um die Behauptung J. Traube's und anderer über die Abhängigkeit des Permeiervermögens von der Oberflächenaktivität nachzuprüfen, habe ich die Oberflächenspannung wässeriger Lösungen der von mir untersuchten Verbindungen gegen Luft bestimmt. Die folgende Tabelle III gibt die Resultate dieser Versuche wieder.

Die Bestimmungen führte ich auf die übliche Weise mit Traube's Stalagmometer aus (z. B. 80 u. 21, S. 105). Die Konzentration der Lösung war entweder 0.1 oder 0.5 GM pro Liter Lösung. Manchmal wurden auch beide Konzentrationen untersucht. Als Lösungsmittel benutzte ich destilliertes Wasser. Das spezifische Gewicht der untersuchten Lösung bestimmte ich mit

Tabelle III.

Nr.	Name der Verbindung	0.1-norm.	0.5-norm.	Nr.	Name der Verbindung	0.1-norm.	0.5-norm.
1	Triäthylcitrat	0.6591	—	21	Laktamid	—	0.9709
2	Dimethylharnstoff	0.8306	—	22	Acetamid	0.9941	0.9734
3	Diacetin	0.8405	—	23	Äthylenglykol	—	0.9779
4	i-Valeramid	0.8605	0.6641	24	Methylglukosid	0.9966	0.9803
5	Pinakonhydrat	0.8642	—	25	Methylharnstoff	—	0.9826
6	Trimethylcitrat	0.8710	—	26	Glycerin	0.9981	0.9935
7	α-Glycerinäthyläther	0.9031	0.7648	27	Formamid	—	0.9938
8	Diäthylharnstoff	—	0.7689	28	Dicyandiamid	0.9988	—
9	Äthylurethan	—	0.8060	29	Wasser	1.0000	1.0000
10	n-Butyramid	—	0.8197	30	Malonamid	—	1.0005
11	Antipyrin	—	0.8342	31	Schwefelharnstoff	—	1.0007
12	Monacetin	—	0.8382	32	Harnstoff	—	1.0008
13	Äthylalkohol	0.9687	0.8648	33	Erythrit	—	1.0028
14	Salicin	0.9710	—	34	Arabinose	—	1.0035
15	α-Monochlorhydrin	0.9804	0.9140	35	Glukose	—	1.0050
16	Propionamid	—	0.9215	36	Mannit	1.0005	1.0056
17	Methylurethan	0.9827	0.9296	37	Maltose	1.0007	—
18	Methylalkohol	0.9863	0.9436	38	Saccharose	1.0009	—
19	Arbutin	0.9911	—	39	Laktose	1.0012	—
20	Succinimid	0.9930	0.9681				

dem Pyknometer unmittelbar nach den stalagmometrischen Messungen. Alle diese Versuche machte ich mit frisch zubereiteten Lösungen, deren Temperatur während der Versuche möglichst genau auf 20° C gehalten wurde.

In der Tabelle sind die relativen Oberflächenspannungen der Lösungen angegeben, bezogen auf die Oberflächenspannung des destillierten Wassers gegen Luft als Einheit. Die relative Oberflächenspannung, x, der untersuchten Lösung erhält man aus der Formel: $x = \frac{s \cdot Z_w}{Z}$, in welcher s das spezifische Gewicht der Lösung, Z_w die Tropfenzahl des destillierten Wassers und Z die Tropfenzahl der untersuchten Lösung ist (21, S. 105).

Unter den von mir untersuchten Verbindungen sind mehrere, deren betreffende Werte bereits TRAUBE (21, S. 118; 81 u. 82) und SOMOGYI (72) veröffentlicht haben. Die Übereinstimmung mit diesen früheren Werte ist befriedigend, besonders wenn man in Betracht zieht, dass dieselben grösstenteils bei 15° C bestimmt sind.

Vergleicht man das aus Tabelle II, S. 87, ersichtliche Permeiervermögen der untersuchten Verbindungen mit ihrer Oberflächenaktivität, so lässt sich im grossen und ganzen ein deutlicher Parallelismus zwischen diesen Eigenschaften beobachten. Dieser ist indessen nicht ausnahmslos. So se-

hen wir, dass z. B. Wasser, Formamid, Äthylenglykol, Methylurethan, Äthylalkohol und Äthylurethan im Vergleich mit den anderen Verbindungen unverhältnismässig rasch permeieren. Zu langsam wiederum im Verhältnis zu ihrer Oberflächenaktivität permeieren namentlich Dimethylharnstoff und Salicin, sowie auch z. B. Diacetin, Monacetin, Diäthylharnstoff, Glycerinmonoäthyläther und Arbutin. In der Tat war ja von vornherein auch vom Standpunkt der Adsorptionstheorie der Protoplasmapermeabilität kein *ausnahmsloser* Parallelismus zwischen dem Permeiervermögen der verschiedenen Verbindungen und ihrer Oberflächenaktivität *gegen Luft* zu erwarten. Denn, wenn auch eine bestimmte Verbindung die Oberflächenspannung des Wassers gegen Luft herabsetzt, können wir doch durchaus nicht sicher wissen, ob — und inwieweit — dieselbe Verbindung die Oberflächenspannung des Wassers gegen die Bestandteile der Plasmahaut vermindert.

Immerhin steht auf Grund meiner Versuche fest, dass, wie bereits gesagt, ein zwar nicht ausnahmsloser, aber doch unverkennbarer Parallelismus zwischen der Oberflächenaktivität der untersuchten Verbindungen und ihrem Permeiervermögen vorhanden ist. Es fragt sich nun, welche Schlüsse aus dieser Tatsache zu ziehen sind. Bedeutet dieser Parallelismus, dass das Permeieren der betreffenden Verbindungen von Oberflächenkräften geregelt ist?

Hierzu ist erstens zu bemerken, dass ein derartiger Schluss jedenfalls nicht ohne nähere Begründung zulässig ist, da, wie im folgenden Kapitel gezeigt werden wird, ein noch ausgeprägterer Parallelismus zwischen dem Permeiervermögen und der relativen Ätherlöslichkeit besteht.

Sodann ist hervorzuheben, dass die bisher näher untersuchten künstlichen, lipoidfreien, beschränkt durchlässigen Membranen (Kupferferrocyanid-, Kollodium- und Gelatinemembranen) oberflächenaktive Verbindungen jedenfalls nicht viel leichter als oberflächeninaktive Stoffe durchlassen. Die grössere Permeabilität für oberflächenaktive Stoffe ist somit sicher keine allgemeine Eigenschaft kolloidaler Membranen (8). Dass die oberflächenaktiven und zugleich lipoidlöslichen Verbindungen gerade den lebenden Protoplasten gegenüber eine so ausgeprägte Sonderstellung einnehmen, muss also wohl von der speziellen chemischen Zusammensetzung der osmotisch massgebenden Protoplasmaschichten bedingt sein. Mit anderen Worten: die mit künstlichen Membranen erzielten Ergebnisse deuten indirekt darauf hin, dass die Permeabilitätseigenschaften der Protoplasten auf ihren Lipoidgehalt zurückzuführen sind. Wenn dem aber so ist, dann ist es nicht leicht zu entscheiden, inwieweit die Permeation von Oberflächenkräften und inwieweit sie von Lösungserscheinungen beherrscht wird.

Wenn man versucht, sich die Permeation als durch Oberflächenkräfte geregelt vorzustellen, kann man dabei in erster Linie entweder die Erscheinungen der positiven oder die der negativen Adsorption berücksichtigen.

Fassen wir zunächst die positive Adsorption ins Auge, so könnte man sich vielleicht denken, wie es wohl TRAUBE getan hat, dass Verbindungen, die an der Grenzfläche zwischen Protoplast und Aussenlösung positiv adsorbiert, also angereichert werden, eben infolge ihrer hierdurch bewirkten grösseren Konzentration »eine grössere Chance» hätten, ins Zellinnere vorzudringen. Hat man dabei aber nicht übersehen, dass für die Diffusion ins Zellinnere nicht die Grösse der totalen Stoffkonzentration an der Plasmahaut massgebend ist, sondern wahrscheinlich allein die Konzentration des freien, von Adsorptionskräften unbeeinflussten Anteils? Dieser Anteil aber wird durch die positive Adsorption eher verkleinert als vergrössert. Ich komme somit zu dem Schluss, dass *die positive Adsorption die auswählende Durchlässigkeit der Protoplasten gar nicht erklären kann.*

Nun liegt ja übrigens das Rätselhafte der Protoplasmapermeabilität nicht sowohl darin, dass die oberflächenaktiven, lipoidlöslichen Verbindungen leicht permeieren, als vielmehr darin, dass oberflächeninaktive, lipoidunlösliche Stoffe — auch solche von recht kleinem Molekularvolumen — merkwürdig langsam oder fast gar nicht permeieren. Diese Impermeabilität des Plasmas für viele Stoffe kann man auf *negative Adsorption* zurückführen wollen, indem man an die von PFEFFER (54), NATHANSOHN (40 u. 41) und TINKER (78 u. 79) entwickelten Vorstellungen anknüpft.

TINKER skizziert die kleinsten Teile einer semipermeablen Membran als Partikelchen (Micelle), zwischen denen, je nach ihrer Grösse, enge, mit Wasser gefüllte Kapillarkanäle bleiben. Dieses Wasser ist dicht an den Membranteilchen reines Adsorptionswasser; falls der Porendurchmesser eine bestimmte Minimalgrenze überschreitet, ist es an den Mittelteilen der Kapillarkanäle, ausserhalb der Adsorptionssphäre der Partikelchen, seiner Beschaffenheit nach wiederum Intermizellarwasser. — Wendet man diese Hypothesen auf das Protoplasma an und setzt voraus, dass die in Wasser gelöste Verbindung hinreichend stark negativ von den Plasmahautteilchen adsorbiert wird, dann kann ihr Permeieren durch das Plasma nur durch die mit Intermizellarwasser gefüllten Kapillarkanäle erfolgen. Dabei ist natürlich die Grösse des Molekularvolumens der permeierenden Verbindung letzten Endes bestimmend für den Durchtritt durch die Plasmahaut; die Theorie von dem der negativen Adsorption gemässen Permeieren vereinigt sich mit der Ultrafiltertheorie (19, S. 1027).

Bei näherer Betrachtung dieser Frage stösst man jedoch auf Tatsachen, die es schwer machen, die oben angedeutete Erklärung TINKER's auf die Protoplasmapermeabilität von *Rhoeo* anzuwenden. Das ungewöhnlich rasche Permeieren z. B. der Triäthylcitratmoleküle durch die Plasmahaut von *Rhoeo* wird uns nach dieser Theorie nur dann verständlich, wenn wir uns die zwischen den Plasmateilchen befindlichen Kanäle so geräumig denken, dass

diese verhältnismässig grossen Moleküle (MR_D=64.7, Molekulargewicht= 276.2) im Wasser gelöst, leicht durch die Plasmahaut gelangen können. Noch eindringlicher zeigt uns dies die von Poijärvi (55) ermittelte Tatsache, dass sogar die Riesenmoleküle des Cevadins (MR_D=mindestens 147.8, Molekulargewicht 591) mit grosser Geschwindigkeit in die *Rhoeo*-Zellen eindringen. Das viel langsamere Permeieren der bedeutend kleineren Moleküle z. B. des Methyl- und Dimethylharnstoffs oder des Laktamids durch solche breite Kanäle kann man im Rahmen der in Rede stehenden Theorie bloss auf die Weise begreifen, dass wiederum die mit Intermizellarwasser angefüllten Mittelteile der Kanäle verhältnismässig eng sind, und dass die erwähnten Molekülarten von den Plasmateilen auffallend kräftig negativ adsorbiert werden. Für die letzterwähnte Annahme dürfte aber bis jetzt jede experimentelle Begründung oder auch nur jeder Wahrscheinlichkeitsbeweis fehlen, denn die genannten Verbindungen werden alle in bezug auf die Grenzfläche Wasser/Luft deutlich positiv adsorbiert.

Somit scheint es mir schwer, die auswählende Durchlässigkeit der *Rhoeo*-Protoplasten allein auf die negative Adsorption zurückzuführen, obwohl natürlich andererseits zuzugeben ist, dass unsere bisherigen Kenntnisse der Adsorption überhaupt und der negativen Adsorption insbesondere so lückenhaft sind, dass eine sichere Entscheidung dieser Frage vorläufig nicht möglich ist.

4. *Das Verhältnis des Permeiervermögens der untersuchten Verbindung zu ihrer relativen Ätherlöslichkeit.*

Vom Standpunkt der bekannten Overton'schen Lipoidtheorie aus wäre es wichtig, die *relative Lipoidlöslichkeit* der plasmolytisch untersuchten Verbindungen zu kennen. Wegen der Unbestimmtheit des Lipoidbegriffs ist jedoch eine exakte Nachprüfung der Overton'schen Theorie schwierig, vor allem, da man nicht weiss, inwieweit die verschiedenen Lipoide bezüglich ihrer Lösungseigenschaften miteinander übereinstimmen. Um wenigstens einen gewissen Begriff von der relativen Lipoidlöslichkeit der von mir plasmolytisch untersuchten Verbindungen zu bekommen, habe ich ihre Verteilungskoeffizienten zwischen (mit Wasser gesättigtem) Äther und (mit Äther gesättigtem) destilliertem Wasser bestimmt. Äther wurde hauptsächlich deshalb als nichtwässerige Phase gewählt, weil hierdurch die Ausführung der Analysen verhältnismässig leicht wird. Auch Overton (z. B. 50) hat ja oft gerade die Ätherlöslichkeit als bequemes Mass für die Lipoidlöslichkeit benutzt. Späteren Untersuchungen muss es vorbehalten bleiben, die Beziehungen zwischen der Ätherlöslichkeit und der Löslichkeit in den vorläufig noch unbekannten Plasmalipoiden im einzelnen zu ermitteln.

Beim Bestimmen der Verteilungskoeffizienten habe ich die beiden Phasen sicherheitshalber 10 Minuten gleichmässig ununterbrochen in einem Scheidetrichter geschüttelt, obgleich das Gleichgewicht — wie besondere Vorversuche zeigten — meist schon bedeutend früher erreicht wird. Die Bestimmungen führte ich bei ungefähr 20—24° C aus. Die Konzentrationen in der Wasserphase waren meist ungefähr dieselben, die auch für plasmolytische Versuche in Frage kamen, also im allgemeinen zwischen 0.1 und 1.0 GM pro Liter. Bei sehr wenig ätherlöslichen Verbindungen musste jedoch die Konzentration der Wasserphase grösser (1—5 GM) gewählt werden. Manchmal habe ich auch dieselbe Verbindung in verschiedenen Konzentrationen untersucht. Innerhalb der benutzten Konzentrationsgrenzen schwankten dabei die Verteilungskoeffizienten recht wenig.

Zur Vermeidung von Irrtümern habe ich die besprochenen Ätherlöslichkeitsbestimmungen immer als Doppelanalysen ausgeführt; die meisten kontrollierte ich auch mehrmals. — Um volle Klarheit darüber zu erlangen, inwieweit die obenerwähnten Konzentrationsschwankungen auf meine Bestimmungen eingewirkt haben, und um zugleich auch eine genügende Genauigkeit der betreffenden Analysen zu erreichen, habe ich, nach Veröffentlichung meiner hauptsächlichen Ergebnisse (9), für vierzehn der von mir untersuchten Verbindungen von neuem die Verteilungskoeffizienten bestimmt. Diese Kontrollversuche habe ich mit solchen Konzentrationen der betreffenden Verbindungen ausgeführt, die meistens von den zum erstenmal angewandten etwas abwichen, im allgemeinen aber ziemlich ebenso gross wie die für die Plasmolyseversuche benutzten waren. Beim Ausführen meiner Kontrollversuche war die Temperatur durchgehends 22—24°C; als ich die eigentlichen, ursprünglichen Bestimmungen machte, war sie hingegen 20—22° C. Nach Herz (20, S. 3—4) beeinflusst dieser Umstand die Ergebnisse in keiner Weise. — Wie die ursprünglichen Bestimmungen, so habe ich auch die Kontrollanalysen als Doppelanalysen gemacht.

Nach dem Schütteln habe ich, zwecks Bestimmung des Verteilungskoeffizienten, unter Anwendung der Analysenmethoden 1) und 2) die Ätherphase analysiert, im Fall 3) die Wasserphase. Diese Analysenverfahren sind folgende:

1) Bei nichtflüchtigen Verbindungen habe ich einfach den Trockenrückstand eines bestimmten Volumens der Ätherphase gewogen.

2) Bei in der Wärme leichter flüchtigen Verbindungen (z. B. den Urethanen) habe ich den Äther aus einem bestimmten Volumen der Ätherphase mittels eines durch die Flüssigkeit geleiteten Luftstroms vollständig entfernt. Statt den Rückstand hiernach zu wägen, bestimmte ich seine Menge durch Titration mit $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$ (43 u. 77). Vorher hatte ich durch einen Vorversuch unter Anwendung einer bekannten Gewichtsmenge der zu untersuchenden Verbindung festgestellt, dass sich diese hierbei nicht durch Verflüchtigung verringert.

3) Die Verteilungskoeffizienten der am leichtesten verdunstenden von mir untersuchten Verbindungen, Methyl- und Äthylalkohol, habe ich auf die u. a. von Morgan und Benson (38) angewandte Weise bestimmt. Nachdem der in der Wasserphase gelöste Äther mit Petroleumäther entfernt war, wandte ich jedoch statt der quantitativen Alkoholdestillation und der Bestimmung des spezifischen Gewichts das Analysieren des Alkohols mittels $K_2Cr_2O_7$ und H_2SO_4 an. — Erwähnt sei noch, dass Morgan und Benson bei ihren Versuchen als mittleren Verteilungskoeffizienten von Äthylalkohol bei 25° C 1.639 erhielten; mein entsprechendes Ergebnis ist bei 20° C 1.86.

Tabelle IV.

Nr.	Verbindung	Datum	Temperatur °C	Konz. der Wasserphase	Vol. der Wasserphase	Vol. der Ätherphase	Verteilungskoeffizient	Mittel der Koeffizienten
1	Triäthylcitrat	30. 7. 26.	21	0.1	10	50	5.17	
	»	»	»	»	»	»	3.85	
	»	16. 8. 27.	24	»	»	»	3.89	
	»	»	»	»	»	»	4.77	**4.42**
2	Äthylalkohol	16. 8. 26.	20	1.0	50	50	1.71	
	»	17. 8. 26.	»	»	»	»	1.85	
	»	18. 8. 26.	»	»	»	»	2.01	**1.86**
3	Äthylurethan	16. 7. 26.	22	0.5	40	40	0.637	
	»	»	»	»	»	»	»	**0.637**
4	Trimethylcitrat	1. 8. 26.	20	0.3	10	50	0.433	
	»	»	»	»	»	»	0.441	
	»	17. 8. 27.	24	0.1	»	»	0.422	
	»	»	»	»	»	»	0.433	**0.432**
5	Methylalkohol	19. 8. 26.	19	1.0	50	50	0.293	
	»	»	20	»	»	»	0.253	**0.273**
6	Diacetin	4. 8. 26.	20	0.5	10	50	0.210	
	»	»	»	»	»	»	0.234	**0.222**
7	i-Valeramid	18. 7. 26.	22	0.5	10	50	0.165	
	»	»	»	»	»	»	0.166	
	»	14. 8. 27.	24	0.25	»	»	0.177	
	»	»	25	»	»	»	0.172	**0.170**
8	Methylurethan	15. 7. 26.	23	0.5	40	40	0.143	
	»	»	»	»	»	»	»	**0.143**
9	α-Monochlorhydrin	6. 8. 26.	21	1.0	10	50	0.0743	
	»	»	»	»	»	»	0.0813	
	»	18. 8. 27.	24	0.5	»	»	0.0745	
	»	»	»	»	»	»	0.0901	**0.0801**
10	Antipyrin	4. 7. 26.	21	0.1	10	50	0.0724	
	»	»	»	»	»	»	0.0770	
	»	15. 8. 27.	23	»	»	»	0.0725	
	»	»	»	»	»	»	0.0710	
	»	»	»	»	»	»	0.0714	
	»	»	»	»	»	»	0.0716	**0.0727**
11	n-Butyramid	20. 7. 26.	22	0.5	10	50	0.0516	
	»	»	»	»	»	»	0.0576	
	»	13. 8. 27.	24	0.25	»	»	0.0635	
	»	»	»	»	»	»	0.0594	**0.0580**
12	Pinakonhydrat	2. 8. 27.	20	0.5	10	50	0.0450	
	»	»	»	»	»	»	0.0400	**0.0425**

Tabelle IV (Forts.)

Nr.	Verbindung	Datum	Temperatur °C	Konz. der Wasserphase	Vol. der Wasserphase	Vol. der Ätherphase	Verteilungskoeffizient	Mittel der Koeffizienten
13	Monacetin	5. 8. 27.	20	0.5	10	50	0.0420	
	»	»	»	»	»	»	0.0402	**0.0411**
14	Succinimid	25. 7. 26.	22	1.0	10	50	0.0292	
	»	»	»	»	»	»	0.0328	
	»	12. 8. 27.	23	0.5	»	»	0.0309	
	»	»	»	»	»	»	0.0328	**0.0314**
15	α-Glycerinmonoäthyläther	8. 8. 26.	21	1.0	10	50	0.0264	
	»	»	»	»	»	»	0.0276	
	»	19. 8. 27.	24	0.5	»	»	0.0265	
	»	»	»	»	»	»	0.0238	**0.0261**
16	Diäthylharnstoff	17. 7. 26.	21	0.5	10	50	0.0196	
	»	»	»	»	»	»	0.0174	**0.0185**
17	Propionamid	23. 7. 26.	22	1.0	10	40	0.0125	
	»	»	»	»	»	»	0.0119	
	»	11. 8. 27.	24	0.5	»	50	0.0131	
	»	»	»	»	»	»	0.0147	**0.0131**
18	Dimethylharnstoff	14. 7. 26.	22	0.1	10	50	0.0104	
	»	»	»	»	»	»	0.0120	
	»	21. 8. 27.	23	»	»	100	0.0120	
	»	»	»	»	»	»	0.0120	**0.0116**
19	Äthylenglykol	10. 7. 26.	22	1.0	40	40	0.0067	
	»	»	»	»	»	»	0.0069	**0.0068**
20	Schwefelharnstoff	7. 7. 26.	21	2.0	10	50	0.0060	
	»	»	»	»	»	»	0.0068	
	»	8. 7. 26.	»	1.0	»	»	0.0065	
	»	»	»	»	»	»	0.0051	
	»	8. 8. 27.	24	»	»	»	0.0068	
	»	»	»	»	»	»	0.0065	**0.0063**
21	Dicyandiamid	20. 8. 26.	21	0.25	10	50	0.0027	
	»	»	20	»	»	»	0.0029	
	»	9. 8. 27.	24	0.20	»	»	0.0029	
	»	»	»	»	»	»	0.0031	**0.0029**
22	Acetamid	21. 7. 26.	22	2.0	10	50	0.0026	
	»	»	»	»	»	»	0.0024	**0.0025**
23	Laktamid	26. 7. 26.	22	1.0	10	50	0.0017	
	»	»	»	»	»	»	0.0018	**0.0018**
24	Formamid	28. 7. 26.	21	5.0	10	50	0.0015	
	»	»	»	»	»	»	0.0013	
	»	»	»	»	»	»	0.0016	
	»	»	»	»	»	»	0.0013	**0.0014**

Tabelle IV (Forts.)

Nr.	Verbindung	Datum	Temperatur °C	Konz. der Wasserphase	Vol. der Wasserphase	Vol. der Ätherphase	Verteilungskoeffizient	Mittel der Koeffizienten
25	Methylharnstoff	12. 7. 26.	22	1.0	10	100	0.0013	
	»	»	»	»	»	»	0.0010	
	»	»	»	5.0	»	50	0.0011	
	»	»	»	»	»	»	0.0012	
	»	10. 8. 27.	24	1.0	»	100	0.0012	
	»	»	»	»	»	»	0.0013	**0.0012**
26	Glycerin	7. 8. 26.	21	1.0	10	100	0.0010	
	»	»	»	»	»	»	0.0013	
	»	»	»	5.0	»	50	0.0011	
	»	»	»	»	»	»	0.0011	**0.0011**
27	Arbutin	12. 8. 26.	20	0.5	5	100	0.0007	
	»	»	»	»	»	»	0.0005	**0.0006**
28	Harnstoff	6. 7. 26.	20	5.0	10	50	0.0004	
	»	»	»	»	»	»	0.0005	
	»	20. 8. 27.	22	»	»	100	0.0005	
	»	»	»	»	»	»	0.0004	**0.0005**
29	Malonamid	27. 7. 26.	22	1.0	10	100	0.0004	
	»	»	»	»	»	»	0.0002	**0.0003**
30	Methylglukosid	11. 8. 26.	21	1.0	5	100	0.0002	
	»	»	»	»	»	»	0.0003	**0.0003**
31	Salicin	13. 8. 26.	21	0.15	5	100	0.0002	
	»	»	»	»	»	»	0.0002	**0.0002**
32	Erythrit	9. 8. 26.	21	2.0	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**
33	Arabinose	9. 8. 26.	21	2.0	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**
34	Glukose	10. 8. 26.	21	2.0	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**
35	Mannit	10. 8. 26.	21	2.0	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**
36	Maltose	14. 8. 26.	21	1.0	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**
37	Saccharose	14. 8. 26.	20	1.0	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**
38	Laktose	15. 8. 26.	20	0.5	5	100	< 0.0001	
	»	»	»	»	»	»	»	**< 0.0001**

Obige Tabelle enthält ein vollständiges Verzeichnis meiner Ätherlöslichkeitsbestimmungen. Darin sind die Konzentrationen in GM pro Liter und die Volumina in ccm angegeben.

Beim Vergleich der relativen Ätherlöslichkeit der untersuchten Verbindungen mit deren Permeiervermögen (Tabelle II, S. 87) erkennt man zwischen diesen Eigenschaften einen deutlichen, obwohl nicht ausnahmslosen Parallelismus. So z. B. lassen sich alle auf S. 92—93 genannten, mit der reinen Ultrafiltertheorie in Widerspruch stehenden Versuchsergebnisse auf diesen Parallelismus zurückführen. So entspricht dem äusserst raschen Permeieren von Triäthylcitrat in die Zellen von *Rhoeo* seine im Vergleich zu den anderen untersuchten Verbindungen ungewöhnlich grosse, relative Ätherlöslichkeit, und das ausserordentlich langsame Permeieren von Malonamid wiederum ist ganz der sehr geringen Ätherlöslichkeit dieser Verbindung gemäss. Ferner steigt die relative Ätherlöslichkeit der Amide der einbasischen Fettsäuren im grossen und ganzen mit der Permeiergeschwindigkeit. Auch die Permeierfähigkeit der Harnstoff- und Glycerinderivate weist einen deutlichen Parallelismus mit deren relativer Ätherlöslichkeit auf.

Eine nähere Prüfung zeigt jedoch sehr bald, *dass Verbindungen, deren Molekularvolumen extrem klein ist, verhältnismässig rascher permeieren, als ihrer relativen Ätherlöslichkeit (oder Oberflächenaktivität) nach zu erwarten wäre.* Beispiele hierfür sind namentlich *Wasser, Methylalkohol, Äthylenglykol, Formamid, Acetamid und Harnstoff.* Untersuchen wir in dieser Beziehung das Verhalten eben dieser sechs Verbindungen zu den anderen. — Zunächst permeiert Wasser äusserst rasch, wahrscheinlich rascher als alle untersuchten Verbindungen in die *Rhoeo*-Zellen trotz seiner wohl zweifellos sehr geringen Ätherlöslichkeit. — Methylalkohol (MR_D=8.2) permeiert ein wenig rascher als das nächstfolgende Glied derselben homologen Reihe, der Äthylalkohol, trotzdem dieser deutlich ätherlöslicher und oberflächenaktiver ist. — Äthylenglykol (MR_D=14.4) permeiert annähernd ebenso schnell wie das bedeutend ätherlöslichere und oberflächenaktivere Pinakonhydrat. — Formamid (MR_D=10.6) permeiert beinahe ebenso rasch wie die viel ätherlöslicheren und oberflächenaktiveren Verbindungen Diacetin und Monochlorhydrin und rascher als Glycerinmonoäthyläther und Acetamid, von denen die zuletztgenannte Verbindung ja zu derselben homologen Reihe wie Formamid gehört. — Acetamid (MR_D=14.9) permeiert ebenso schnell wie das oberflächenaktivere und bedeutend ätherlöslichere Succinimid und schneller als z. B. Monacetin, Dimethyl- und Diäthylharnstoff, obgleich auch alle diese ätherlöslicher und oberflächenaktiver sind. — Harnstoff (MR_D=13.7) schliesslich permeiert ein wenig schneller als das lipoidlöslichere Dicyandiamid. *Demnach scheint also auch die Grösse des Molekularvolumens immerhin eine gewisse Bedeutung für das Permeiervermögen der verschiedenen Verbindungen zu haben.*

Der Parallelismus zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit lässt sich vielleicht am besten mit demjenigen zwischen dem Permeiervermögen

und der Oberflächenaktivität vergleichen, wenn man die untersuchten Verbindungen nach der Grösse ihres Molekularvolumens in mehrere Gruppen ordnet, wie dies in Tabelle V geschehen ist. Hier ist in der mit P bezeichneten Spalte die laufende Nummer jeder Verbindung angegeben, die ihrem Permeiervermögen, verglichen mit demjenigen der anderen Verbindungen derselben Gruppe, entspricht. Spalte L enthält die der relativen Ätherlöslichkeit und Spalte O die der Oberflächenaktivität jeder Verbindung entsprechende laufende Nummer in bezug auf die anderen Verbindungen derselben Gruppe. Beim Betrachten der verschiedenen Verbindungen dieser Tabelle erhält man einen recht guten Begriff davon, dass die Beziehungen zwischen Permeiervermögen und relativer Ätherlöslichkeit in der Tat noch regelmässiger als diejenigen zwischen Permeiervermögen und Oberflächenaktivität sind.

Tabelle V.

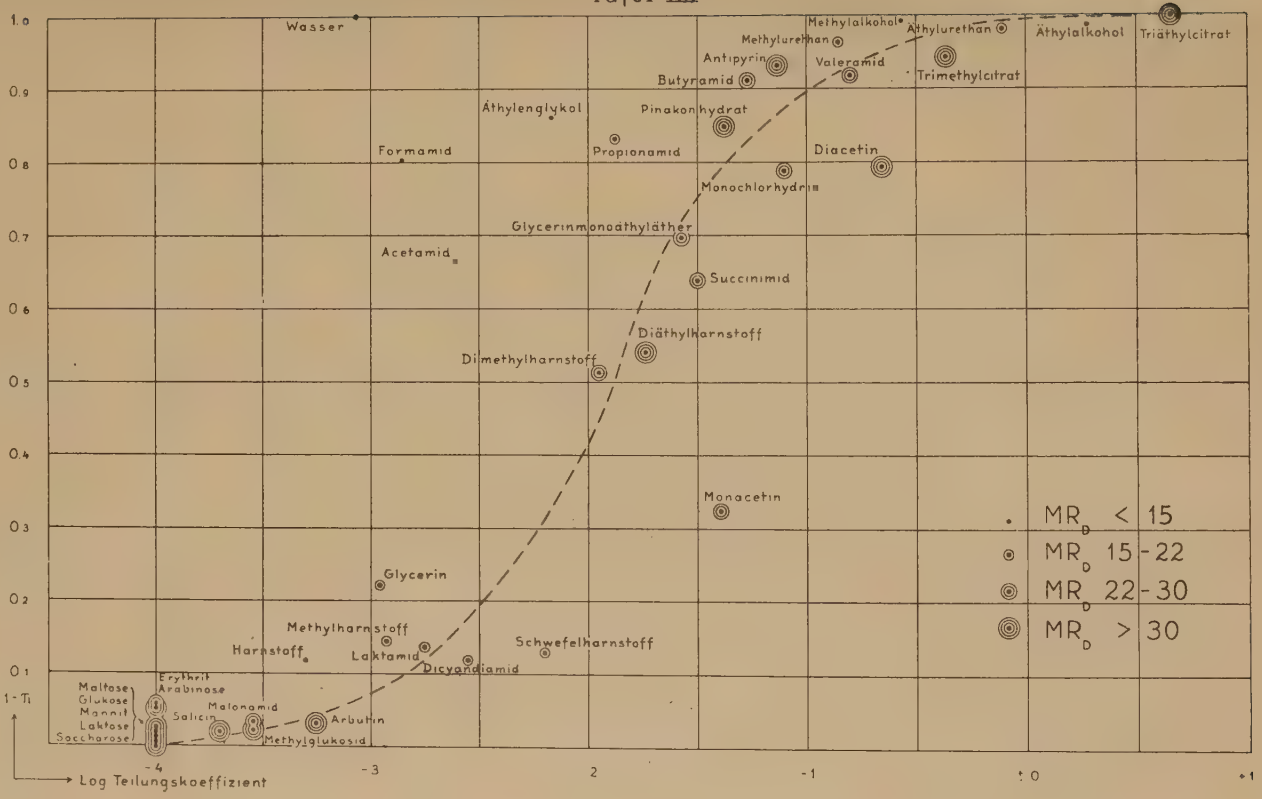
	P	L	O
Gruppe I ($MR_D < 12$)			
Methylalkohol	1	1	1
Formamid	2	2	2
Gruppe II ($MR_D = 12—20$)			
Äthylalkohol	1	1	1
Methylurethan	2	2	3
Äthylenglykol	3	4	5
Propionamid	4	3	2
Acetamid	5	5	4
Methylharnstoff	6	6	6
Harnstoff	7	7	7
Gruppe III ($MR_D = 20—30$)			
Äthylurethan	1	1	4
i-Valeramid	2	2	2
n-Butyramid	3	4	5
α-Monochlorhydrin	4	3	7
Glycerinmonoäthyläther	5	7	3
Succinimid	6	6	8
Dimethylharnstoff	7	8	1
Monacetin	8	5	6
Glycerin	9	12	10
Schwefelharnstoff	10	9	13
Laktamid	11	11	9
Dicyandiamid	12	10	11
Erythrit	13	14	14
Malonamid	14	13	12
Gruppe IV ($MR_D > 30$)			
Triäthylcitrat	1	1	1
Trimethylcitrat	2	2	4
Antipyrin	2	4	6
Pinakonhydrat	4	5	3
Diacetin	5	3	2
Diäthylharnstoff	6	6	5
Arabinose	7	10	10
Methylglukosid	7	8	9
Glukose	7	10	11
Maltose	7	10	13
Arbutin	7	7	8
Mannit	7	10	12
Laktose	7	10	15
Salicin	7	9	7
Saccharose	7	10	14

Tafel XII, S. 105, zeigt schliesslich das Verhältnis des Permeiervermögens der untersuchten Verbindungen zu ihrer relativen Ätherlöslichkeit, unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Molrefraktionen, graphisch dargestellt. Auf dieser Tafel sind die Logarithmen der Verteilungskoeffizienten der verschiedenen Verbindungen als Abszisse eingetragen. Für sämtliche Verbin-

dungen, für die nur die Höchstgrenze der relativen Ätherlöslichkeit bestimmt wurde, ist als Koeffizient 0.0001 gewählt worden, also als Logarithmenwert — 4. Da ich den Verteilungskoeffizienten von Wasser nicht bestimmt habe, bringe ich diese Verbindung auf der Tafel so an, dass ich die relative Ätherlöslichkeit des Wassers, gemäss den Oberflächenaktivitätsbestimmungen (S. 94), als zwischen Malonamid und Dicyandiamid stehend voraussetze. — Als Ordinate wären eigentlich die dem Permeiervermögen der untersuchten Verbindungen entsprechenden Zahlenwerte zu benutzen. Da nun jedoch, wie früher hervorgehoben, nur für wenige Verbindungen ein derartiger Zahlenwert (P-Wert) direkt bestimmt werden konnte, musste hier leider ein etwas willkürlicher Massstab für das Permeiervermögen benutzt werden. Als solchen brauche ich den Ausdruck $1-\pi$, wobei der π-Wert der reduzierten Kurven $^1/_2$ Stunde nach Versuchsbeginn gewählt wurde. Für die zwischen Erythrit und Saccharose liegenden Verbindungen wurde stattdessen der Wert $\frac{1-\pi}{2}$ genommen, dabei aber der 1 Stunde entsprechende π-Wert benutzt. Es ist klar, dass dieses Verfahren, namentlich angesichts der ungleichen Form der Plasmolysekurven, einigermassen willkürlich ist. Indessen dürfte dies die Darstellung nicht wesentlich beeinträchtigen, denn es ist leicht zu erkennen, dass die $^1/_2$ St.-π-Werte fast ganz regelmässig um so kleiner sind, je grösser das Permeiervermögen ist (vgl. Tabelle II). Das Permeiervermögen von Wasser ist als ebenso gross wie das von Triäthylcitrat bewertet worden. Dass Wasser tatsächlich zum mindesten etwa so rasch wie der erwähnte Ester in die Zellen permeiert, ist wohl ziemlich sicher, da eine hypotonische Saccharoselösung von bekannter Stärke bei Zusatz von Triäthylcitrat sich für dieselben Zellen als — wenn auch sehr schwach — hypertonisch erweist. — Auf Tafel XII sind die verschiedenen Verbindungen als ungleich grosse Punkte eingetragen, entsprechend der Grösse ihres Molekularvolumens.

Eine Betrachtung der Tafel führt in erster Linie zu dem Resultat, dass das Permeiervermögen sich in grossen Zügen nach der relativen Ätherlöslichkeit richtet. Man sieht dies daran, dass sich die Punkte ganz deutlich um eine S-förmig gebogene Linie gruppieren, die mit wenig ätherlöslichen und wenig permeierfähigen Verbindungen anfängt und mit reichlich ätherlöslichen und leicht permeierenden Stoffen endet. Von dieser allgemeinen Regel bilden indessen, wie aus der Darstellung hervorgeht, Wasser, Äthylenglykol, Formamid und Acetamid besonders auffallende Ausnahmen, indem sie im Verhältnis zu ihrer relativen Ätherlöslichkeit unverhältnismässig permeierfähig sind. Alle genannten vier Verbindungen haben eine Molrefraktion, die unterhalb 15 liegt. Wo stehen nun auf der Tafel die anderen, ihrem Molekularvolumen nach ungefähr gleich grossen Verbindungen: Methyl-

Tafel XII


1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
1 - Ti
Wasser
Methylalkohol
Äthylurethan
Äthylalkohol
Triäthylcitrat
Methylurethan
Antipyrin
Valeramid
Butyramid
Trimethylcitrat
Äthylenglykol
Pinakonhydrat
Formamid
Propionamid
Diacetin
Monochlorhydrin
Glycerinmonoäthyläther
Acetamid
Succinimid
Diäthylharnstoff
Dimethylharnstoff
Monacetin
Glycerin
Methylharnstoff
Harnstoff
Laktamid
Dicyandiamid
Schwefelharnstoff
Erythrit
Arabinose
Maltose
Glukose
Mannit
Laktose
Saccharose
Malonamid
Salicin
Arbutin
Methylglukosid
MR D < 15
MR D 15 - 22
MR D 22 - 30
MR D > 30
- 4
- 3
2
- 1
0
+1
Log Teilungskoeffizient

alkohol, Äthylalkohol und Harnstoff? Von diesen sind die zwei erstgenannten so ätherlöslich, dass, auch wenn sie im Verhältnis zu ihrer Ätherlöslichkeit zu schnell permeierten, dies in der graphischen Darstellung doch nicht deutlich zum Ausdruck kommen kann. Das Permeiervermögen von Harnstoff schliesslich scheint, mit demjenigen von Glycerin verglichen, den relativen Ätherlöslichkeiten dieser beiden Verbindungen zu entsprechen, obgleich das Molekularvolumen des Harnstoffs bedeutend kleiner ist. Vergleichen wir aber den Harnstoff mit Schwefelharnstoff, Dicyandiamid, Laktamid und Methylharnstoff, so sehen wir, dass auch sein Permeiervermögen im Vergleich zu seiner relativen Ätherlöslichkeit etwas zu gross ist. Somit kommen wir auch auf Grund dieser Betrachtung zu der schon oben aufgestellten Behauptung, dass das Permeieren extrem kleinmolekularer Verbindungen durch das *Rhoeo*-Plasma rascher erfolgt, als man ihrer relativen Ätherlöslichkeit nach voraussetzen sollte. Dies betrifft namentlich solche Verbindungen, deren Molrefraktion unter 15 ist. Doch lässt die Betrachtung der Tafel XII es nicht ganz unwahrscheinlich erscheinen, dass vielleicht auch noch Stoffe, deren MR_D etwa 15—20 beträgt, im Verhältnis zu ihrer Ätherlöslichkeit etwas zu rasch permeieren. Die vier untersuchten Verbindungen, deren MR_D von dieser Grösse ist, nämlich Methylurethan (16.5), Methylharnstoff (18.5), Propionamid (19.5) und Glycerin (20.6), befinden sich, wie ersichtlich, tatsächlich in der graphischen Darstellung alle etwas oberhalb der Mittelwertlinie. Dagegen zeigt das besonders langsame Permeieren von Malonamid (22.9), dass bereits Moleküle von dieser Grösse nur nach Massgabe ihrer Ätherlöslichkeit permeieren. Und ebenso sehen wir die Moleküle der zwei grössten Gruppen ($MR_D = 22—30$ bzw. > 30) ganz gleichmässig sowohl ober- wie unterhalb der Mittelwertkurve zerstreut.

Es ist nun im Hinblick auf das eben Gesagte von grossem Interesse, dass Poijärvi (55) bei seinen eben veröffentlichten, nach ganz andersartigen Methoden ausgeführten Untersuchungen über die Permeabilität der *Rhoeo*-Zellen für Basen zu ganz derselben Regelmässigkeit gekommen ist. Er fand nämlich, dass Ammoniak ($MR_D = 5.9—8.4$), Methylamin (10.2—14.0) und Hydrazin (9.4—16.8) deutlich permeierfähiger sind, als auf Grund ihrer relativen Ätherlöslichkeit zu erwarten wäre, während bereits Äthylendiamin (18.2—25.7) mit durchaus »normaler» Geschwindigkeit permeiert. Auch in diesem Falle muss also die kritische Teilchengrösse etwa der Molrefraktion 15—20 entsprechen.

Bis jetzt haben wir in diesem Kapitel bloss die experimentell feststellbaren Beziehungen zwischen dem Permeiervermögen verschiedener Verbindungen und deren relativer Ätherlöslichkeit und Molekulargrösse besprochen. Wir kommen nun zu der Frage, wie diese Beziehungen zu erklären sind.

Die einfachste Erklärung für den konstatierten Parallelismus zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit scheint mir die Annahme zu bieten, dass die osmotisch massgebenden Schichten der Protoplasten von *Rhoeo* Stoffe enthalten, deren Lösungsvermögen im grossen und ganzen mit demjenigen des Äthers übereinstimmen. Es würde sich also um irgendwelche Lipoide handeln, deren nähere Beschaffenheit allerdings noch zu erforschen wäre. Diese Erklärung kommt mir um so wahrscheinlicher vor, da es, wie im vorigen Kapitel gezeigt wurde, schwer ist, die Permeabilitätseigenschaften der *Rhoeo*-Protoplasten allein auf die Wirkung von Oberflächenkräften zurückzuführen. Damit soll allerdings nicht behauptet werden, dass neben den Lösungsvorgängen nicht auch noch Adsorptionsprozesse die Permeabilität beeinflussen können.

Die ganz regelmässigen Abweichungen von dem genannten Parallelismus zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit, — indem eben die extrem kleinen Moleküle immer leichter permeieren, als auf Grund ihrer Ätherlöslichkeit zu erwarten wäre, — deuten darauf hin, dass neben der Lipoidlöslichkeit auch dem Ultrafilterprinzip eine gewisse Bedeutung bei der Erklärung der Permeabilitätseigenschaften der *Rhoeo*-Protoplasten zukommt. Es scheint nämlich, dass Moleküle, deren Molrefraktion kleiner als etwa 15—20 ist, auch unabhängig von ihrer eventuellen Lipoidlöslichkeit durch enge, vermutlich wassererfüllte Poren das Plasma durchsetzen können, während grössere Moleküle offenbar nicht in diese Poren einzudringen vermögen.

Die bisher bekannten Permeabilitätseigenschaften der Protoplasten von *Rhoeo* wären somit am besten zu verstehen auf Grund einer Hypothese, die eine Kombination der Lipoidlöslichkeitshypothese Overton's mit dem zuerst von M. Traube ausgesprochenen Molekülsieb- oder Ultrafilterprinzip darstellt [1]). Für diese Kombination, die im Jahre 1925 von Collander

[1]) Ich gebe zu, dass unter meinen Ergebnissen auch solche sind, die dem Anschein nach nicht ganz in den Rahmen der besagten Theorie passen. So habe ich festgestellt, dass z. B. Glycerin rascher als Schwefelharnstoff permeiert, obgleich diese letztere Verbindung ihrem Molekularvolumen nach fast gleich gross ist wie Glycerin und ihre relative Ätherlöslichkeit grösser als die des Glycerins. Schwefelharnstoff und Glycerin bilden übrigens nicht die einzige derartige Ausnahme. Ähnlich sind z. B. noch Laktamid und Dicyandiamid, sowie Succinimid und Glycerinmonoäthyläther. Irgendwie gewichtige Beweise gegen die aufgestellte Theorie bilden indessen diese Feststellungen nicht. Im Gegenteil erscheinen sie sehr begreiflich, wenn man bedenkt, dass die unbekannten Lipoide der Plasmahaut doch nicht gut in allen Einzelheiten hinsichtlich ihrer Lösungseigenschaften mit dem Äthyläther übereinstimmen können. (Auch geben die Molrefraktionen ja nicht immer genau das wirkliche Grössenverhältnis der Molekularvolumina der untersuchten Verbindungen in wässerigen Lösungen an.)

unter Hinweis auf ältere, ähnliche Gedankengänge NATHANSOHN's (40 u. 41) zur Erklärung der Protoplasmapermeabilität empfohlen wurde, hat POJÄRVI den Namen Lipoidfilterhypothese vorgeschlagen. Wenn ich jetzt diesem Vorschlag folge, bin ich mir dabei wohl bewusst, dass bereits die Mosaikhypothese NATHANSOHN's bezüglich des Baus der Plasmahaut der COLLANDER'schen Lipoidfilterhypothese sehr nahe kommt. Dagegen unterscheiden sich die beiden Hypothesen voneinander darin, dass NATHANSOHN den Gedanken an eine Siebwirkung der Plasmahaut abweist, während COLLANDER im Gegenteil auf die Tatsache aufmerksam macht, dass extrem kleine Moleküle leichter permeieren, als auf Grund ihrer sonstigen Eigenschaften zu erwarten wäre, und hieraus auf eine Ultrafilterwirkung des Protoplasmas schliesst.

IV. Vergleich mit anderen Zellen.

Bei meinen Permeabilitätsstudien habe ich mich auf ein einziges Objekt, die Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*, beschränkt. Es wäre nun selbstverständlich von grossem Interesse, zu wissen, wie andere Zellarten sich denselben Verbindungen gegenüber verhalten. Im folgenden sollen deshalb die von mir an *Rhoeo* erzielten Ergebnisse mit den Resultaten von drei anderen Untersuchungen, in denen gleichfalls das Permeiervermögen einer grossen Anzahl von verschiedenen Nichtelektrolyten studiert wurde, verglichen werden.

Zuerst mögen die mittels der Wägemethode ausgeführten, eingehenden Studien OVERTON's (51) an den Muskelfasern des Frosches betrachtet werden. Dass ich unter den zahlreichen von OVERTON studierten Objekten gerade dieses Beispiel herausgreife, geschieht deshalb, weil OVERTON bezüglich keines anderen Objektes so viele Einzeltatsachen mitteilt. Unter den von ihm an Froschmuskeln studierten Nichtelektrolyten waren auch die meisten von mir an *Rhoeo* untersuchten Verbindungen. Leider hat OVERTON jedoch nicht die Reihenfolge der Permeierfähigkeiten sämtlicher von ihm untersuchten Verbindungen angegeben. Was er aber in dieser Hinsicht an Einzeltatsachen mitteilt, genügt, wie wir im folgenden sehen werden, vollauf, um die *überraschend grosse Übereinstimmung* hinsichtlich der Permeabilitätseigenschaften dieser zwei sonst so verschiedenartigen Objekte darzutun.

Äusserst rasch permeieren nach OVERTON in die Muskelfasern die einwertigen Alkohole, z. B. Methyl- und Äthylalkohol, ferner Methyl- und Äthylurethan, sowie Triäthylcitrat. Ein Blick auf Tabelle II, S. 87, zeigt, dass gerade die genannten Verbindungen am allerschnellsten auch in die *Rhoeo*-Zellen eindringen. Auch Antipyrin dringt »sehr leicht» sowohl in die Muskelfasern wie in die *Rhoeo*-Zellen ein.

Bedeutend langsamer als Äthylalkohol permeieren nach OVERTON die zweiwertigen Alkohole, von denen unter anderen Äthylenglykol und Pinakon als Beispiele genannt werden. Noch erheblich langsamer als Glykol permeiert Glycerin in die Muskelfasern; Erythrit wiederum dringt »nur noch äusserst langsam» ein. Die Acetine des Glycerins dringen leichter als das Glycerin selber in die Muskelfasern ein. Monochlorhydrin permeiert »ungefähr so schnell» wie Äthylenglykol und ebenso die Fettsäureamide, von denen Valeramid schneller als Acetamid in die Muskelfasern eindringt, während Laktamid »nicht ganz unbedeutend langsamer» als Acetamid permeiert. Alles dies gilt nach meinen Beobachtungen auch für die *Rhoeo*-Zellen.

Für Harnstoff und Thioharnstoff sind nach OVERTON die Muskelfasern »schwerer durchlässig als für Glycerin, aber leichter als für Erythrit». Methylharnstoff permeiert »schneller» und Thioharnstoff »etwas schneller» als der gewöhnliche Harnstoff. Die Dialkylharnstoffe sind noch permeierfähiger. Auch dies lässt sich ohne weiteres auf die *Rhoeo*-Zellen übertragen.

Endlich permeieren die fünf- und sechswertigen Alkohole und die ihnen entsprechenden Pentosen und Hexosen sowie die Disaccharide und das zu den Glukosiden gehörende Salicin »nicht merklich» in die Froschmuskelfasern, was ja mit ihrer kaum nachweislichen Permeation in die *Rhoeo*-Zellen im Einklang steht.

Im Vergleich zu diesen zahlreichen, höchst auffälligen Übereinstimmungen zwischen den Permeabilitätseigenschaften der Froschmuskelfasern und derjenigen der Epidermiszellen von *Rhoeo* sind die paar Unterschiede, die sich beim genauen Vergleich der Angaben OVERTON's mit meinen Befunden ergeben, von untergeordneter Bedeutung. So z. B. gibt OVERTON an, dass Succinimid »etwas schneller» als Acetamid in die Muskelfasern eindringt. In die *Rhoeo*-Zellen permeieren sie dagegen, wie ich gefunden habe, genau gleich schnell. Auch fand OVERTON, dass Pinakon »sehr deutlich schneller» in die Muskelfasern eindringt als Äthylenglykol, während ich dagegen finde, dass diese beiden Verbindungen so ziemlich gleich schnell in die *Rhoeo*-Zellen eindringen. Irgendwelche andere *direkte* Widersprüche zwischen den Angaben OVERTON's bezüglich der Permeabilität der Froschmuskelfasern und meinen eigenen Beobachtungen über die Durchlässigkeit der Epidermisprotoplasten von *Rhoeo* habe ich aber nicht finden können[1]). Ich sehe hierin einen schlagenden Beweis für die Richtigkeit der Behauptung OVERTON's, dass die verschiedenartigsten Tier- und Pflanzenzellen hinsichtlich ihrer Permeabilität für gelöste Stoffe einander ausserordentlich ähnlich sein können.

[1]) Über die Permeabilität der Froschmuskelfasern für Formamid, an welchem Stoff die Durchbrechung der Lipoidlöslichkeitsregel zu Gunsten des Ultrafilterprinzips vermutlich am deutlichsten zu beobachten wäre, finden sich bei OVERTON keine Angaben.

Allerdings mag es sein, dass OVERTON die Übereinstimmung in der Permeabilität verschiedenartiger Zellen doch ein wenig übertrieben hat. Vergleichen wir z. B. meine Befunde an *Rhoeo* mit den Ergebnissen der Untersuchung von MOND und FR. HOFFMANN (37) über die Permeabilität der Blutkörperchen beim Rind, so müssen wir hier neben einer weitgehenden, sehr beachtenswerten prinzipiellen Übereinstimmung doch auch zahlreiche, zum Teil recht auffallende Unterschiede in den Details feststellen.

MOND und HOFFMANN teilen die von ihnen untersuchten Verbindungen nach ihrer Permeiergeschwindigkeit in drei Gruppen ein. Zur Gruppe der am schnellsten permeierenden Verbindungen gehören Harnstoff, Schwefelharnstoff, Methylharnstoff, Diäthylharnstoff und Glykol. Mässig schnell permeieren Laktamid, Monacetin, Malonamid und Glycerin. Am langsamsten endlich permeieren Erythrit, Arabinose, Glukose und Saccharose. Besonders auffällig an diesen Befunden ist, wenn man sie mit den entsprechenden Ergebnissen bei *Rhoeo* vergleicht, dass Harnstoff und Schwefelharnstoff schneller als z. B. Glycerin und Monacetin in die Blutkörperchen eindringen, und dass das in die *Rhoeo*-Zellen kaum merkbar permeierende Malonamid schneller als Erythrit permeiert. (Die sehr grosse Permeabilität der Erythrozyten für Harnstoff ist auch z. B. von JACOBS (28) überzeugend dargelegt worden.) Dies bedeutet aber höchstwahrscheinlich nicht, dass der Modus der Stoffaufnahme bei den Blutkörperchen ein anderer wäre als bei den Protoplasten von *Rhoeo*. Vielmehr liesse sich der beobachtete Unterschied leicht erklären unter der Annahme, dass die Porengrösse der Plasmahaut bei den Blutkörperchen grösser ist, so dass der Grenzwert für die Durchlässigkeit lipoidunlöslicher Verbindungen, wie MOND und HOFFMANN selbst annehmen, bei einer Molrefraktion von etwa 25 liegt, während der entsprechende Grenzwert für die *Rhoeo*-Zellen, wie erwähnt, etwa 15—20 beträgt.

Wenn wir uns schliesslich den von RUHLAND und C. HOFFMANN (70) an *Beggiatoa mirabilis* erzielten Ergebnissen zuwenden, stossen wir hier auf ganz andersartige Verhältnisse. Die Lipoidlöslichkeit der Verbindungen soll für das Permeiervermögen hinsichtlich der *Beggiatoa*-Zellen ganz bedeutungslos sein. Vielmehr würde das Permeiervermögen fast ausschliesslich vom Molekularvolumen abhängen, so dass das Plasma sich wie ein typischer Ultrafilter verhielte. So interessant nun auch die merkwürdigen Permeabilitätseigenschaften der *Beggiatoa*-Zellen sind, erscheint es doch nicht möglich, die an diesem Objekt gewonnenen Ergebnisse zu verallgemeinern. Gewiss, das Ultrafilterprinzip spielt auch für die Permeabilität anderer Zellen eine gewisse Rolle, aber soweit die bisherigen Untersuchungen zeigen, im allgemeinen doch nur eine verhältnismässig bescheidene Rolle im Vergleich zu der überragenden Bedeutung der Lipoidlöslichkeit bzw. der Oberflächenaktivität.

Zusammenfassung.

1. Es wurde versucht, die Protoplasmapermeabilität der Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* für zahlreiche Nichtelektrolyte auf plasmolytischem Wege zu bestimmen. Offenbar eignet sich das genannte Objekt aussergewöhnlich gut für derartige Bestimmungen.

2. Der Verlauf der Plasmolyse und der Deplasmolyse in Lösungen von 38 verschiedenen Verbindungen wird in Form von Kurven dargestellt.

3. Bei allen genügend rasch permeierenden, nicht allzu schädlichen Stoffen wird festgestellt, dass ihr Permeieren aus der Aussenlösung in die Zellen bis zum annähernden Konzentrationsverhältnis 1 : 1 stattfindet.

4. In allen den Fällen, wo es möglich war, das Permeieren einer bestimmten Verbindung vom Versuchsbeginn bis zum annähernden Konzentrationsausgleich genau zu verfolgen, wurde beobachtet, dass der Permeationsvorgang — im grossen und ganzen wenigstens — gemäss dem FICK'schen Diffusionsgesetz erfolgte. Dieser Umstand, sowie die im vorhergehenden und im folgenden Punkt erwähnten Beobachtungen sprechen sehr dafür, dass die Permeation der untersuchten Verbindungen im wesentlichen einen Diffusionsvorgang darstellt und nicht auf eine aktive Betätigung der lebenden Protoplasten zurückzuführen ist. Auch findet in den untersuchten Fällen keine merkbare Veränderung der Permeabilität während des Permeationsprozesses statt.

5. In allen den Fällen, wo die Endosmosegeschwindigkeit einer bestimmten Verbindung mit deren Exosmosegeschwindigkeit verglichen wurde, erwiesen sich diese ceteris paribus als gleich gross.

6. Für einige — allerdings verhältnismässig wenige — Verbindungen habe ich die »Permeationskonstanten» bestimmen können, die ein direktes Mass des Permeiervermögens der betreffenden Verbindungen darstellen. Die ermittelten Permeationskonstanten finden sich in Tabelle I, S. 83, zusammengestellt. — In bezug auf die übrigen von mir untersuchten Verbindungen habe ich mich jedoch darauf beschränken müssen, — unter kritischer Prüfung des allgemeinen Verlaufs der Plasmolysekurven und unter genauer Berücksichtigung der in Frage kommenden Fehlerquellen, — die Reihenfolge ihrer relativen Permeierfähigkeiten zu ermitteln. Diese Reihenfolge ist aus Tabelle II, S. 87, ersichtlich.

7. Im allgemeinen erweist sich das relative Permeiervermögen der verschiedenen von mir untersuchten Verbindungen in bezug auf die *Rhoeo*-Zellen als in hohem Grade übereinstimmend mit den früheren OVERTON'schen Untersuchungsergebnissen, z. B. an Froschmuskelfasern. Auf die Gemeingültigkeit dieser Resultate weisen auch MOND's und HOFFMANN's an Rinderblutkörperchen erzielte Resultate hin.

8. Die Erscheinungen der positiven Adsorption können m. E. die beobachteten Permeationserscheinungen nicht erklären. Auch den Einfluss der negativen Adsorption als eines die Permeierfähigkeit entscheidend bestimmenden Faktors halte ich für einigermassen unwahrscheinlich.

9. Noch weniger lassen sich die gewonnenen Ergebnisse mittels der reinen Ultrafiltertheorie erklären.

10. Zwischen der relativen Ätherlöslichkeit der untersuchten Verbindungen und der Permeierfähigkeit derselben konstatiere ich einen augenfälligen Parallelismus. Indessen permeieren die besonders kleinen Moleküle (solche, deren Molrefraktion kleiner als ca. 15 ist) leichter, als man ihrer Ätherlöslichkeit nach erwarten sollte. Unter diesen Umständen können meines Erachtens die Permeabilitätseigenschaften der *Rhoeo*-Protoplasten am besten durch eine Kombination der Lipoidlöslichkeits- und der Ultrafilterhypothese erklärt werden, indem man annimmt, dass die grossen und mittelgrossen Moleküle in den Lipoiden gelöst permeieren, während die allerkleinsten Moleküle auch durch zwischen den Lipoidteilchen befindliche Poren eindringen können.

Zitierte Literatur.

1. v. Antropoff, A., Die Dynamik osmotischer Zellen. I. Vorläufige Mitteilung. Zeitschr. f. physik. Chem. *76*. 721—731. 1911.
2. Blackman, V. H., Osmotic pressure, root pressure, and exudation. New Phytologist. *20*. 106—115. 1921.
3. Brenner, Widar, Studien über die Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen. Öfvers. af Finsk. Vet. Soc. Förh. Bd. LX. Afd. A. N:o 4. 1918.
4. —»— Über die Wirkung von Neutralsalzen auf die Säureresistenz, Permeabilität und Lebensdauer der Protoplasten. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *38*. 277—285. 1920.
5. Brunner, Erich, Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. Zeitschr. f. physik. Chem. *47*. 56—102. 1904.
6. Collander, Runar, Über die Durchlässigkeit der Kupferferrozyanidmembran für Säuren nebst Bemerkungen zur Ultrafilterfunktion des Protoplasmas. Kolloidchem. Beihefte. *20*. 273—287. 1925.
7. —»— Über die Permeabilität von Kollodiummembranen. Soc. Scient. Fennica, Comment. Biol. II. 6. 1—45. 1926.
8. —»— Einige Permeabilitätsversuche mit Gelatinemembranen. Protoplasma. *3*. 213—222. 1927.
9. Collander, Runar, und Bärlund, Hugo, Über die Protoplasmapermeabilität von *Rhoeo discolor*. Vorläufige Mitteilung. Soc. Scient. Fennica, Comment. Biol. II. 9. 1—13. 1926.
10. Crocker, J. C., The velocity of hydrolysis of alifatic amides. Journ. of the Chem. Society. *91*. 593—612. 1907.
11. —»— The velocity of hydrolysis of the alifatic amides by alkali. Journ. of the Chem. Society. *91*. 952—962. 1907.
12. Eisenlohr, F., Eine Neuberechnung der Atomrefraktionen I. Zeitschr. f. physik. Chem. *75*. 585—607. 1910.
13. —»— Eine Neuberechnung der Atomrefraktionen II. Zeitschr. f. physik. Chem. *79*. 129—146. 1912.
14. Findlay, Alexander, Der osmotische Druck. Dresden und Leipzig, 1914.
15. Fitting, Hans, Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. *56*. 1—64. 1915.
16. —»— Untersuchungen über isotonische Koeffizienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Jahrb. f. wiss. Bot. *57*. 553—612. 1917.
17. —»— Untersuchungen über die Aufnahme und über anomale osmotische Koeffizienten von Glycerin und Harnstoff. Jahrb. f. wiss. Bot. *59*. 1—170. 1920.

18. Fleischmann, Walter, Untersuchungen zur Frage der Permeabilität pflanzlicher und tierischer Zellmembranen für Kohlehydrate. Pflügers Archiv. *220*. 448—465. 1928.
19. Freundlich, H., Kapillarchemie. Zweite Auflage. Leipzig, 1922.
20. Herz, W., Der Verteilungssatz. Sonderausgabe a. d. Sammlung chem. und chem.-techn. Vorträge. Bd. XV. Stuttgart, 1909.
21. Höber, Rudolf, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Sechste, neubearbeitete Auflage. Leipzig, 1926.
22. —»— Der Stoffaustausch zwischen Protoplast und Umgebung. Handb. d. norm. u. path. Physiologie. (Herausgeg. von A. Bethe u. a.) Band I. 407—485. Berlin, 1927.
23. Höfler, Karl, Über die Zuckerpermeabilität plasmolysierter Protoplaste. Planta. *2*. 454—475. 1926.
24. Iljin, W. S., Die Permeabilität des Plasmas für Salze und die Anatonose. Stud. from the plant physiol. laboratory of Charles University, Prague. *1*. 97—119. 1923.
25. —»— Die Durchlässigkeit des Protoplasmas, ihre quantitative Bestimmung und ihre Beeinflussung durch Salze und durch die Wasserstoffionenkonzentration. Protoplasma. *3*. 558—602. 1928.
26. Irwin, Marian, Exit of dye from living cells of *Nitella* at different ph values. Journ. Gen. Physiol. *10*. 75—102. 1926.
27. Jacobs, M. H., Permeability of the cell to diffusing substances. General Cytology (Cowdry). 99—164. Chicago, 1924.
28. —»— The exchange of material between the erythrocyte and its surroundings. Harvey Lectures. Ser. XXII. 146—164. 1927.
29. Küster, E., Über die Verschmelzung nackter Protoplasten. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *27*. 589—598. 1909.
30. —»— Über Veränderung der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse. Zeitschr. f. Bot. *2*. 689—717. 1910.
31. Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen. 5. Aufl., herausgeg. von W. A. Roth und K. Scheel. Berlin, 1923.
32. Lepeschkin, W. W., Ueber den Turgordruck der vakuolisierten Zellen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *26, a*. 198—214. 1908.
33. —»— Ueber die osmotischen Eigenschaften und den Turgordruck der Blattgelenkzellen der Leguminosen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *26, a*. 231—237. 1908.
34. —»— Ueber die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *27*. 129—142. 1909.
35. —»— Permeabilitätsänderung des Protoplasmas nach der Methode der isotonischen Koeffizienten. Biochem. Zeitschr. *142*. 291—307. 1923.
36. —»— Untersuchungen über das Frühlingsbluten der Birke und des Ahorns. Planta. *4*. 113—139. 1927.
37. Mond, Rudolf und Hoffmann, Friedrich, Weitere Untersuchungen über die Membranstruktur der roten Blutkörperchen. Pflügers Archiv. *219*. 467—480. 1928.
38. Morgan, J. L. R. und Benson, H. K., Die Bestimmung von Molekelgewichten durch Verteilungsversuche. Zeitschr. f. anorg. Chem. *55*. 356—360. 1907.

39. Morse, H. N., The osmotic pressure of aqueous solutions. Carnegie Institution of Washington. Publication N:o 198. Washington, 1914.
40. Nathansohn, A., Ueber die Regulation der Aufnahme anorganischer Salze durch die Knollen von Dahlia. Jahrb. f. wiss. Bot. *39*. 607—644. 1904.
41. —»— Weitere Mitteilungen über die Regulation der Stoffaufnahme. Jahrb. f. wiss. Bot. *40*. 403—442. 1904.
42. Nernst, Walter, Theoretische Chemie. Achte bis zehnte Auflage. Stuttgart, 1921.
43. Nicloux, Maurice, Dosage de l'alcohol dans le chloroform. Bull. de la soc. chim. de Paris. *35*. 330—335. 1906.
44. Noyes, Arthur A., und Whitney, Willis R., Ueber die Auflösungsgeschwindigkeit von festen Stoffen in ihren eigenen Lösungen. Zeitschr. f. physik. Chem. *23*. 689—692. 1897.
45. Ostwald, W., Die Einwirkung der Säuren auf Acetamid. Journ. f. prakt. Chem. *27*. 1—39. 1883.
46. Overton, Ernst, Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. Vierteljahrsschr. d. Naturforsch. Ges. in Zürich. *40*. 159—201. 1895.
47. —»— Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie. Vierteljahrsschr. d. Naturforsch. Ges. in Zürich. *41*. 383—406. 1896.
48. —»— Ueber die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermuthlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. Vierteljahrsschr. d. Naturforsch. Ges. in Zürich *44*. 88—135. 1899.
49. —»— Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. *34*. 669—701. 1900.
50. —»— Studien über die Narkose. Jena, 1901.
51. —»— Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. Pflügers Archiv. *92*. 115—280; 346—386. 1902.
52. —»— Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. Pflügers Archiv. *105*. 176—290. 1904.
53. —»— Über den Mechanismus der Resorption und der Sekretion. Handb. d. Physiol. d. Menschen (herausgeg. von W. Nagel). *2*. 744—898. 1907.
54. Pfeffer, W., Osmotische Untersuchungen: Studien zur Zellmechanik. Leipzig, 1877.
55. Poijärvi, L. Arvi P., Über die Basenpermeabilität pflanzlicher Zellen. Acta Botanica Fennica. *4*. 1928.
56. Price, T. S., and Twiss, D. F., The refractivity of sulphur in various alifatic compounds. Journ. of the Chem. Society. *101*. 1259—1268. 1912.
57. Renner, O., Über die Berechnung des osmotischen Druckes. Biol. Centralbl. *32*. 486—504. 1912.
58. Ruhland, W., Die Bedeutung der Kolloidnatur wässeriger Farbstofflösungen für ihr Eindringen in lebende Zellen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *26, a*. 772—782. 1908.
59. —»— Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss Bot. *46*. 1—54. 1909.

60. Ruhland, W. Erwiderung. Biochem. Zeitschr. *22*. 409—410. 1909.
61. —»— Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel von *Beta vulgaris*. Jahrb. f. wiss. Bot. *50*. 200—257. 1911.
62. —»— Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. *51*. 376—431. 1912.
63. —»— Die Plasmahaut als Ultrafilter bei der Kolloidaufnahme. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *30*. 139—141. 1912.
64. —»— Zur Kritik der Lipoid- und der Ultrafiltertheorie der Plasmahaut nebst Beobachtungen über die Bedeutung der elektrischen Ladung der Kolloide für ihre Vitalaufnahme. Biochem. Zeitschr. *54*. 59—77. 1913.
65. —»— Zur Kenntnis der Rolle des elektrischen Ladungssinnes bei der Kolloidaufnahme durch die Plasmahaut. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *31*. 304—310. 1913.
66. —»— Zur chemischen Organisation der Zelle. Biol. Centralbl. *33*. 337—351. 1913.
67. —»— Weitere Untersuchungen zur chemischen Organisation der Zelle. Ber. d. deutsch. bot. Ges. *31*. 553—556. 1913.
68. —»— Weitere Beiträge zur Kolloidchemie und physikalischen Chemie der Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. *54*. 391—447. 1914.
69. —»— Untersuchungen über die Hautdrüsen der Plumbaginaceen. Jahrb. f. wiss. Bot. *55*. 409—498. 1915.
70. Ruhland, W. und Hoffmann, C., Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta; Arch. f. wiss. Bot. *1*. 1—83. 1925.
71. Runnström, J., Untersuchungen über die Permeabilität des Seeigeleies für Farbstoffe. Arkiv för Zoologi. *7*. N:o 13. 1911.
72. Somogyi, R., Oberflächenspannungstabellen nach Arbeiten von J. Traube und Forch. Internat. Zeitschr. f. physik.-chem. Biolog. *3*. 61. 1916.
73. Stiles, Walter, Permeability. New Phytologist reprint N:o 13. London, 1924.
74. —»— The exosmosis of dissolved substance from storage tissue into water. Protoplasma. *2*. 577—601. 1927.
75. Szücs, J., Studien über Protoplasmapermeabilität. Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. zu Wien; math.-naturw. Cl. Abt. I. *119*. 737—773. 1910.
76. Tammann, G., Zur Messung osmotischer Drucke. Zeitschr. f. physik. Chem. *9*. 97—108. 1892.
77. Tervaert, D. G. C., Mikroreduktionsbestimmungen. Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler). *110*. 41—54. 1920.
78. Tinker, Fr., The microscopic structure of semipermeable membranes and the part played by surface forces in osmosis. Proc. Roy. Soc. London, A *92*. 357—372. 1916.
79. —»— The selective properties of the copper ferrocyanide membrane. Proc. Roy. Soc. London, A *93*. 268—276. 1917.
80. Traube, J., Der Oberflächendruck und seine Bedeutung im Organismus. Pflügers Archiv. *105*. 559—572. 1904.
81. —»— Die osmotische Kraft. Pflügers Archiv. *123*. 419—432. 1908.
82. —»— Theorie der Narkose. Pflügers Archiv. *153*. 276—308. 1913.

83. Tröndle, A., Neue Untersuchungen über die Aufnahme von Stoffen in die Zelle. Biochem. Zeitschr. *112*. 259—285. 1920.
84. de Vries, Hugo, Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Jahrb. f. wiss. Bot. *14*. 427—601. 1884.
85. —»— Ueber den isotonischen Coëfficient des Glycerins. Bot. Zeitung. *46*. 229—235; 245—253. 1888.
86. Willstätter, R. und Wirth, Th., Über Thioformamid. Ber. d. deutsch. chem. Ges. *42*. 1908—1922. 1909.

BERICHTIGUNGEN.

Seite 25, Zeile 22 von unten: statt plasmolysierenden lies: plasmolytischen.
Seite 27, unterste Zeile: statt Kbesonderes apitel lies: besonderes Kapitel.
Seite 30, Zeile 4 von oben: statt Fo mamid lies: Formamid.
Seite 43, Tafel IV: statt Dimethylharnstoff lies: Diäthylharnstoff.
Seite 55, Zeile 4—6 von unten ist zu streichen: dieselbe aber nicht merklich überschreiten, was dagegen der Fall wäre, wenn Katatonose- oder Exosmoseprozesse mit im Spiel wären.
Seite 59, Zeile 19 von unten: statt quantiatativen lies: quantitativen.
Seite 68, Zeile 3 von oben: statt D cyandiamid lies: Dicyandiamid.
Seite 70, Zeile 2 von oben: statt ezperimentellen lies: experimentellen.
Seite 81, Zeile 20 von unten: statt Tafel X lies: Tafel XI.

ACTA BOTANICA FENNICA

1, N:o 1. **Alvar Palmgren:** Die Artenzahl als pflanzengeographischer Charakter sowie der Zufall und die säkulare Landhebung als pflanzengeographische Faktoren. Ein pflanzengeographischer Entwurf, basiert auf Material aus dem äländischen Schärenarchipel. Mit zwei Karten. Helsingforsiae 1925. S. 1—142.

Acta Bot. Fenn. 1 hoc fasciculo absoluta sunt.

2. **Alvar Palmgren.** Die Einwanderungswege der Flora nach den Ålandsinseln. 1. Mit 57 Karten. Helsingforsiae 1927. S. 1—199.

3. **Carl Cedercreutz:** Studien über Laubwiesen in den Kirchspielen Kyrkslätt und Esbo in Südfinnland. Mit besonderer Berücksichtigung der Verbreitung und Einwanderung der Laubwiesenarten. Mit 64 Karten und 10 Bildern. Helsingforsiae 1927. S. 1—181.

4. **L. Arvi P. Poijärvi:** Über die Basenpermeabilität pflanzlicher Zellen. Helsingforsiae 1928. S. 1—102.

5. **Hugo Bärlund:** Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von Rhoeo discolor. Helsingforsiae 1929. S. 1—117.